

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg-Essen

Aus der Klinik für Neurologie

*Trace-Blinkreflexkonditionierung bei Patienten mit degenerativen
Kleinhirnerkrankungen:
ein Vergleich zwischen einem kurzen und einem langen Trace- Intervall*

Inaugural – Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg-Essen

Vorgelegt von
Anna Catharina Eßer
aus Duisburg
2009

Dekan: Herr Univ.- Prof. Dr. med. Michael Forsting
1. Gutachter: Frau Univ.- Prof. Dr. med. D. Timmann-Braun
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. U.Bonnet

Tag der mündlichen Prüfung: 06. Oktober 2009

Publikation

Trace eyeblink conditioning in patients with cerebellar degeneration:
comparison of short and long trace- intervals

Gerwig, M., **Esser, A.C.**, Guberina, H., Frings, M., Kolb, F.P., Forsting, M.,
Aurich, V., Beck, A., Timmann, D.

Experimental Brain Research, 2008, 187 (1): 85- 96.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	Seite 5
1.1 Vorwort.....	Seite 5
1.2 Anatomischer Aufbau des Cerebellums.....	Seite 6
1.2.1 Makroskopischer Aufbau	Seite 6
1.2.2 Mikroskopischer Aufbau	Seite 9
1.3 Übersicht der Erkrankungen der untersuchten Patienten (Ataxien).....	Seite 11
1.3.1 Spinocerebelläre Ataxien.....	Seite 11
1.3.2 Autosomal dominante cerebelläre Ataxie Typ III.....	Seite 12
1.3.3 Sporadische Ataxie des Erwachsenenalters unbekannter Genese	Seite 13
1.4 Funktionen des Kleinhirns.....	Seite 14
1.4.1 Kognitive Funktionen.....	Seite 14
1.4.2 Motorische Funktionen.....	Seite 14
1.4.3 Motorische Lernvorgänge.....	Seite 16
1.5 Konditionierung.....	Seite 17
1.5.1 Klassische Konditionierung.....	Seite 17
1.5.2 Delay-Konditionierung.....	Seite 18
1.5.3 Trace-Konditionierung.....	Seite 18
1.6 Neuronale Verschaltung der Blinkreflexkonditionierung.....	Seite 19
1.7 Fragestellung.....	Seite 22
 2. Methodenteil.....	 Seite 26
2.1 Studienteilnehmer.....	Seite 26
2.2 Bildgebende Verfahren.....	Seite 29
2.3 Blinkreflexkonditionierung.....	Seite 31
2.4 Datenanalyse.....	Seite 32
2.5 Timing.....	Seite 34
2.6 Awareness (Bewusstwerden des Versuchsablaufs).....	Seite 35
2.7 Statistik.....	Seite 36
 3 Ergebnisse.....	 Seite 37
3.1 Auswertung der MRT-Daten.....	Seite 37
3.2 Auswertung der konditionierten Antworten.....	Seite 38
3.3 Effekte von Awareness.....	Seite 42
3.4 Auswertung der spontanen Blinkrate.....	Seite 44
3.5 Auswertung der Alpha- Blinkrate.....	Seite 44
3.6 Timing der konditionierten und unkonditionierten Blinkreflexantworten.....	Seite 45
3.6.1 Unkonditionierte Antworten (UR).....	Seite 45
3.6.2 Konditionierte Antworten (CR).....	Seite 46
3.7 Auswertung der Extinktion.....	Seite 48
 4 Diskussion.....	 Seite 51
4.1 Kurzes Trace-Intervall.....	Seite 51
4.2 Langes Trace-Intervall.....	Seite 55
4.3 Awareness.....	Seite 56
4.4 Timing	Seite 57
4.5 Extinktion.....	Seite 58
 5. Schlussfolgerungen.....	 Seite 60
 6. Zusammenfassung.....	 Seite 61
 Literaturverzeichnis.....	 Seite 62
Abbildungsverzeichnis.....	Seite 71
Danksagung.....	Seite 72
Lebenslauf.....	Seite 73

1 Einleitung

1.1 Vorwort

Das übergeordnete Thema der vorliegenden Dissertation ist die Rolle des Kleinhirns bei assoziativen motorischen Lernvorgängen.

Die klassische Blinkreflexkonditionierung ist ein erprobtes Modell um assoziatives Lernen sowohl bei Menschen als auch bei Tieren zu untersuchen.

Die zwei am meisten verwendeten Paradigmen sind die Delay- und Trace-Blinkreflexkonditionierung. In der Delay-Konditionierung bleibt der konditionierte Stimulus (CS) so lange bestehen, bis der unkonditionierte Stimulus (US) dargeboten wird. Die beiden Stimuli überlappen zeitlich und enden gemeinsam.

In der Trace-Konditionierung bleiben konditionierter und unkonditionierter Stimulus durch ein stimulationsfreies Intervall getrennt, das sogenannte Trace-Intervall. Zudem ist das Interstimulusintervall (ISI, d.h. Zeit zwischen Beginn CS und Beginn US) üblicherweise im Trace-Paradigma länger als im Delay-Paradigma (Green und Woodruff-Pak 2000).

Ziel dieser Dissertation ist es, die Rolle der Kleinhirnrinde für die Trace-Blinkreflexkonditionierung zu untersuchen.

Dazu wurden gesunde Kontrollprobanden und Patienten mit degenerativen Kleinhirnerkrankungen jeweils mit einem langen und einem kurzen Trace-Intervall untersucht.

1.2 Anatomischer Aufbau des Cerebellums

Die folgenden anatomischen Übersichten wurden sinngemäß übernommen aus Trepel (2001) und Schiebler (2003).

1.2.1 Makroskopischer Aufbau

Das Cerebellum liegt in der hinteren Schädelgrube und bildet das Dach des vierten Ventrikels. Es befindet sich unter dem Okzipitallappen des Großhirns, von denen es durch eine Duraduplikatur, dem Tentorium cerebelli, getrennt wird. Es ist über die drei Kleinhirnstiele mit dem Hirnstamm verbunden.

Das Cerebellum lässt sich in den Vermis cerebelli und die zwei Kleinhirnhemisphären gliedern (Abbildung 1 oben und Mitte).

Der Vermis liegt in der Mitte der beiden Hemisphären, ist 1-2 cm breit und umgreift das Cerebellum von sagittal.

Die Oberfläche besteht aus zahlreichen Furchen, Fissurae cerebelli, welche die Rinde in viele Windungen, Folia, einteilt und zu einer Oberflächenvergrößerung von ca. 2000 cm² führt. Durch diese Furchen wird das Cerebellum in Lappen unterteilt. Wichtig sind hier die Fissura prima, die über Vermis und Hemisphären das Cerebellum in Lobus cerebelli anterior und Lobus cerebelli posterior unterteilt. Die Fissura posterolateralis trennt den Lobus cerebelli posterior von dem Lobus flocculonodularis. Diese Struktur setzt sich zusammen aus dem paarigen Flocculus und dem Nodulus, der den unteren Teil des Vermis bildet.

Auch funktionell lässt sich das Cerebellum in drei Anteile untergliedern.

Das Vestibulocerebellum besteht im Wesentlichen aus dem Lobus flocculonodularis und erhält seine Afferenzen aus den Nuclei vestibulares.

Das Spinocerebellum besteht vorwiegend aus Vermis und der paravermalen Zone und erhält seine Afferenzen aus dem Rückenmark.

Die letzte Funktionseinheit ist das Pontocerebellum, welches sich aus den beiden Hemisphären zusammensetzt. Dieser Teil erhält seine Afferenzen überwiegend aus dem Großhirn über die Nuclei pontis.

Im Sagittalschnitt erscheint die charakteristische Gestalt des Arbor vitae („Lebensbaum“), der durch die starke Einfaltung der Kleinhirnrinde und den Foliae zustande kommt.

Der Horizontalschnitt (Abbildung 1 unten) zeigt die Unterteilung in die graue Substanz der Rinde, die weiße Substanz des Marks und innerhalb des Marks die graue Substanz der Kleinhirnerne.

In der medialen Zone (Vermis) befindet sich der Nucleus fastigii, der mit dem Vestibulocerebellum und Teilen des Spinocerebellums in Verbindung steht.

Die Nuclei globosi und emboliformis liegen in der paramedianen Zone und stehen mit dem Spinocerebellum in Verbindung.

In der lateralen Zone (Hemisphären) liegt der Nucleus dentatus, welcher der größte Kern und das umfangreichste System ist. Dieser steht in funktioneller Verbindung mit dem Pontocerebellum.

Die Blutversorgung findet über drei Arterien statt, die Äste der A. basilaris und A. vertebralis sind.

Die A. superior cerebelli versorgt den oberen Anteil des Vermis und die mediale und laterale Hemisphäre. Die A. inferior anterior cerebelli versorgt primär den Flocculus und zu einem geringen Anteil den vorderen Teil der Kleinhirnhemisphären. Die A. inferior posterior cerebelli versorgt den unteren Anteil des Vermis und die Unterseite der Hemisphären.

Der Nucleus dentatus wird durch die A. nuclei dentati, einem Ast der A. superior cerebelli, versorgt, sowie im inferioren Gebiet zum Teil von der A. inferior posterior cerebelli.

Die übrigen Kerne werden ebenfalls durch die A. superior cerebelli versorgt.

Der venöse Abfluss erfolgt zur V. magna cerebri, über die V. petrosa in den Sinus petrosus superior und in den Sinus rectus und Confluens sinuum.

Kleinhirn (Cerebellum)

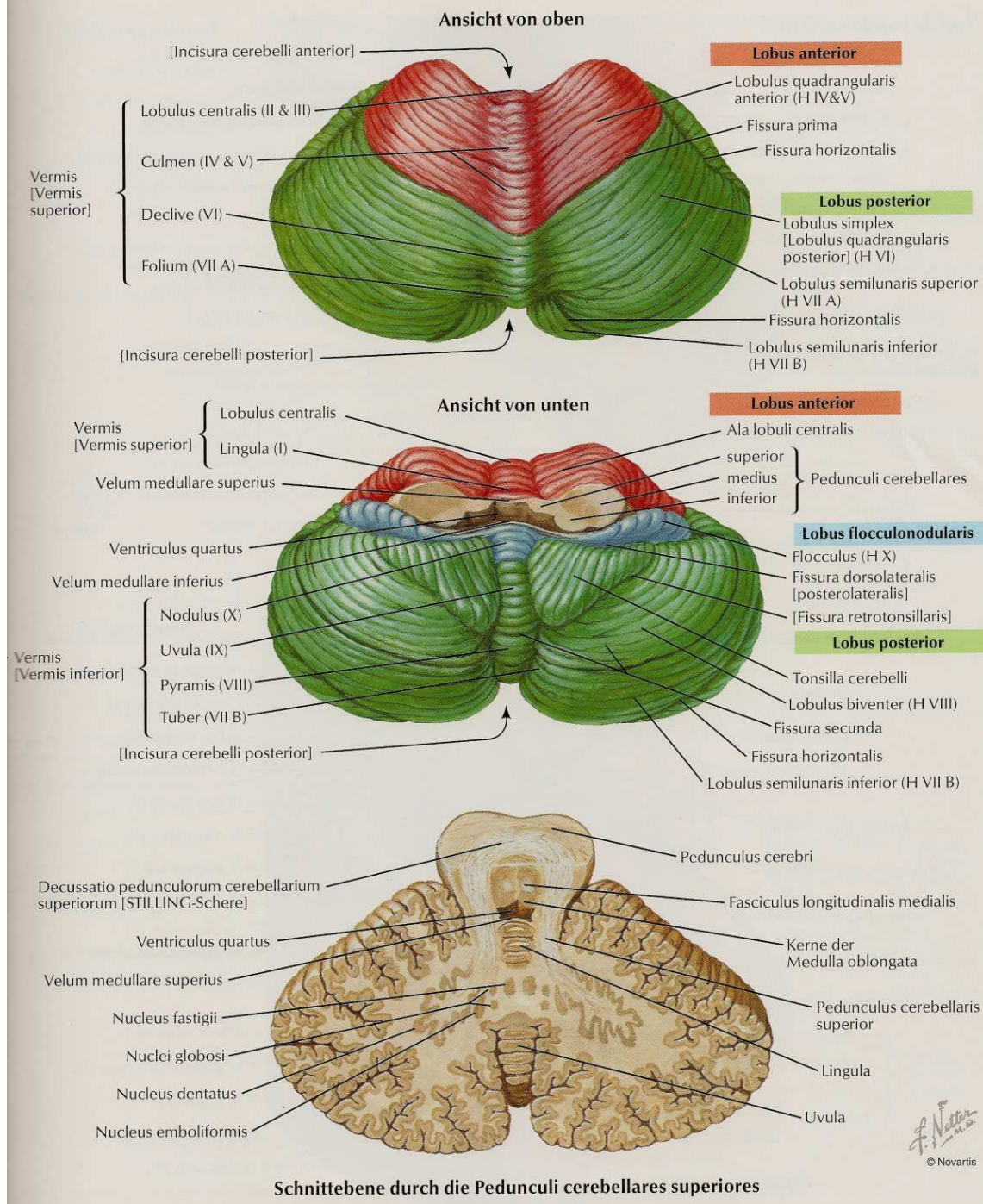


Abbildung 1 Anatomische Darstellung des Kleinhirns (aus: Netter, Atlas der Anatomie des Menschen, 1999)

1.2.2 Mikroskopischer Aufbau

Die Rinde des Cerebellums lässt sich in drei Schichten unterteilen.

Die innerste Schicht bildet das Stratum granulosum, die mittlere das Stratum purkinjense und die äußerste das Stratum moleculare (Abbildung 2).

Das Stratum granulosum (Abbildung 2-b) ist die zellreichste Schicht der cerebellären Rinde und besteht zum Großteil aus Körnerzellen und zu einem geringen Anteil aus Golgizellen.

Beide Zellen werden von Moosfasern erregt, welche afferente Fasern, vor allem aus den Nuclei pontis, enthalten.

Die Körnerzellen mit dem Transmitter Glutamat sind die einzigen exzitatorischen Zellen des cerebellären Kortex. Die Efferenzen der Körnerzellen gelangen als Parallelfasern in das Stratum moleculare und bilden mit den Dendriten von Purkinje-, Korb- und Sternzellen Synapsen.

Die Golgizellen sind hemmende Zellen, die von Parallelfasern der Körnerzellen und von Kollateralen der Purkinjezellen und Moosfasern erregt werden und rückkoppelnd über den Neurotransmitter GABA an den Dendriten der Körnerzellen hemmend wirken.

Das Stratum purkinjense (Abbildung 2-c) sitzt dem Stratum granulosum auf und wird dominiert durch einschichtig geordnete Purkinje-Zellen. Jede Zelle erhält Afferenzen über Kletterfasern, deren Perikarya von außerhalb des Kleinhirns (untere Olive) liegen, und über die Parallelfasern aus dem Stratum granulosum.

Die Purkinje-Zellen sind die einzigen cerebellären Zellen, deren Efferenzen die cerebelläre Rinde verlassen. Sie wirken über den Transmitter GABA inhibitorisch auf die Kleinhirnkerne.

Die äußerste Schicht bildet das Stratum moleculare (Abbildung 2-d), welches sehr zellarm und sehr faserreich ist. Es besteht aus oberflächennahen Sternzellen und, in den tieferen Schichten, aus Korbzellen.

Die Korbzellen umfassen mit ihren Axonen die Purkinje-Zellen und wirken inhibitorisch. Die Sternzellen wirken ebenfalls inhibitorisch auf die Purkinje-Zellen, enden aber an deren Dendriten.

Den Großteil der Schicht nehmen die Parallelfasern ein, die parallel zur Oberfläche in Längsrichtung der Windungen verlaufen, mit den Purkinjezellendendriten in Kontakt treten und dort exzitatorisch wirken.

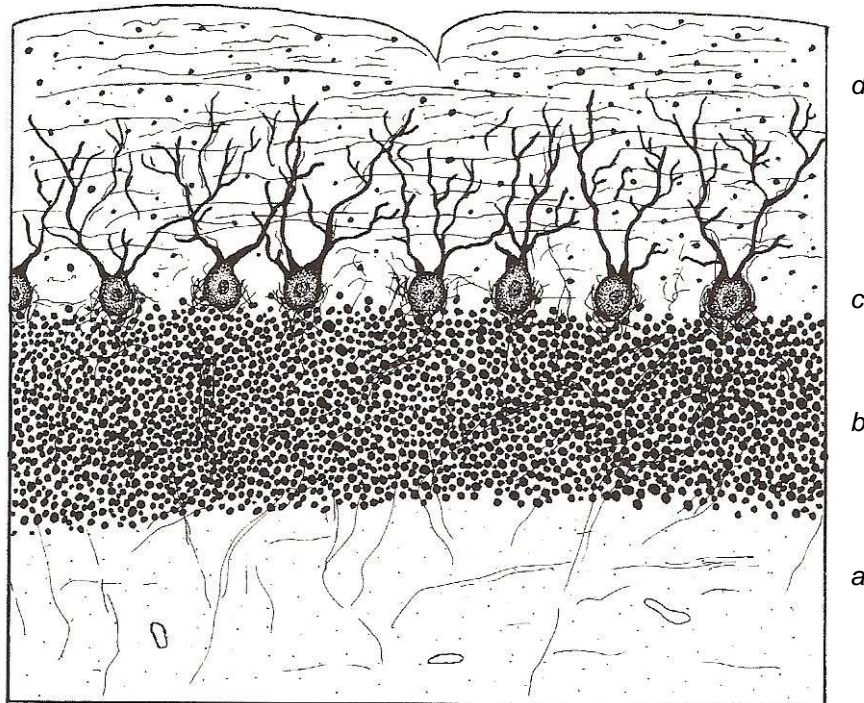


Abbildung 2 Schematische Darstellung des mikroskopischen Aufbaus der Kleinhirnrinde (aus: Trepel, 2001): von innen nach außen: a weiße Substanz, b Stratum granulosum, c Stratum purkinjense, d Stratum moleculare

1.3 Übersicht der Erkrankungen der untersuchten Patienten (Ataxien)

Unter den Ataxien werden nicht fokale Erkrankungen des Kleinhirns zusammengefasst, deren Leitsymptome progressive oder episodische Ataxien sind.

Es wird unterschieden zwischen erblichen, nicht-erblichen degenerativen und erworbenen symptomatischen Ataxien.

Hier soll kurz auf die Formen der Ataxien eingegangen werden, welche die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten zeigten.

Herauszuheben ist, dass nur Patienten mit degenerativen Kleinhirnerkrankungen eingeschlossen worden sind, die ganz oder überwiegend das Kleinhirn betreffen. Dazu gehören die autosomal dominant vererbte spinocerebelläre Ataxie vom Typ 6 (SCA6), die autosomal dominant vererbte Ataxie vom Typ III nach Harding (ADCAIII) und die sporadische Ataxie des Erwachsenenalters (SAOA).

1.3.1 Spinocerebelläre Ataxien

Spinocerebelläre Ataxien (SCA) gehören zu den autosomal-dominanten Ataxien und sind in der Reihenfolge der Entdeckung ihres Gendefekts benannt.

Die häufigsten Typen sind die SCA 1,2,3 und 6, für welche genetische Tests als Routinediagnostik angeboten werden.

Bei der SCA 1, 2 und 3 tritt eine cerebelläre Symptomatik nicht isoliert auf, sondern wird von extracerebellären Symptomen begleitet.

Die Patienten unserer Studie leiden an einer SCA 6, bei der die Erkrankung überwiegend das Kleinhirn betrifft.

Hier liegt der Gendefekt auf dem kurzen Arm von Chromosom 19 (19p13).

Die translatierte CAG-Repeat-Expansion führt zu einer Mutation in einer Calciumkanal-Untereinheit (CACNA1A).

Typisch ist eine nahezu rein cerebelläre Ataxie, die bereits häufig zu Beginn von einer Okulomotorikstörung begleitet wird.

Weitere Symptome können lebhaftere Reflexe, eine verminderte Pallästhesie und Migräne sein. Letztere bedingt durch den gleichen Genort wie die familiäre hemiplegische Migräne.

Da der Genort auch identisch mit der episodischen Ataxie vom Typ 2 (EA 2) ist, finden sich Fälle, wo sich die Ataxie zusätzlich episodenhaft verschlechtert.

Die SCA 6 beginnt häufig erst nach dem 50. Lebensjahr.

Therapeutisch stehen vor allem physiotherapeutische, logopädische und ergotherapeutische Maßnahmen im Vordergrund.

Eine medikamentöse Therapie für die SCA 6 ist nicht bekannt, bei episodischen Verschlechterungen der Ataxie kann die Gabe von Acetazolamid wirksam sein (Timmann 2006, Klockgether und Timmann 2007).

1.3.2 Autosomal dominante cerebelläre Ataxie Typ III

Die Einteilung nach Harding in drei Formen der autosomal dominanten cerebellären Ataxie (ADCA) wurde weitestgehend aufgehoben, findet aber weiterhin Anwendung bei Patienten, die eine eindeutige Familiengeschichte zeigen, bei denen jedoch bisher kein genetischer Nachweis möglich war.

Die autosomal dominante cerebelläre Ataxie Typ I (ADCA I) weist neben den cerebellären Symptomen extracerebelläre Zeichen auf, wie z.B. Polyneuropathien und Spastik.

Die autosomal dominante cerebelläre Ataxie Typ II (ADCA II) zeigt neben den cerebellären Symptomen eine pigmentäre Retinadegeneration.

In die vorliegende Studie wurden nur Patienten mit einer ADCA III aufgenommen.

Die autosomal dominante cerebelläre Ataxie Typ III ist bis auf geringe mögliche extracerebelläre Zeichen, wie wenig ausgeprägte Polyneuropathie- und Pyramidenbahnzeichen, eine rein cerebelläre Ataxie (Timmann 2006).

1.3.3 Sporadische Ataxie des Erwachsenenalters unbekannter Genese (SAOA)

Unter dem Begriff der SAOA, die früher auch als idiopathische cerebelläre Ataxie bezeichnet wurde (IDCA), werden Ataxien zusammengefasst, für die sich weder eine genetische noch eine symptomatische Ursache finden lässt. Auch die klinischen Kriterien einer Multisystematrophie (MSA) werden nicht erfüllt. Die Diagnose ist eine Ausschlussdiagnose, die nur nach sorgfältigen Untersuchungen gestellt werden kann.

Klinisch steht bei den Patienten die cerebelläre Ataxie im Vordergrund. In milder Form können Begleitsymptome wie leichte Schluckstörungen, eine Pallhypästhesie und gesteigerte Reflexe vorkommen.

Bildgebende Verfahren zeigen meist eine isolierte Kleinhirnatrophie.

Eine spezifische oder kausale Therapie der SAOA ist nicht bekannt.

Es werden jedoch Physiotherapie und logopädische Behandlungen empfohlen (Klockgether und Timmann 2007).

1.4 Funktionen des Kleinhirns

Das Kleinhirn übernimmt eine wesentliche Rolle in der Koordination von Bewegungen, sowohl in deren Initiierung, als auch in der Planung und Durchführung.

Neben der Kontrolle der Motorik zeigen viele Untersuchungen, dass das Kleinhirn eine wichtige Rolle bei der Erlernung von motorischen Abläufen und möglicherweise auch bei kognitiven Prozessen spielt (Timmann et al. 1999).

1.4.1 Kognitive Funktionen

Eine Bedeutung des Kleinhirns für nicht motorische Funktionen wird seit vielen Jahren diskutiert und ist umstritten. Aus Läsions- und bildgebenden Studien wird eine Rolle für die Sprache, für visuell-räumliche Leistungen, Exekutivfunktionen, einschließlich des Arbeitsgedächtnisses, sowie für Aufmerksamkeit, Affekt und Verhalten abgeleitet. Inwieweit das Kleinhirn bei diesen kognitiven Prozessen eine Rolle spielt, und ob sich daraus eine klinische Relevanz ergibt, ist weiterhin Gegenstand der Forschung (Timmann et al. 2006).

1.4.2 Motorische Funktionen

Das Kleinhirn hat verschiedene Aufgaben bei der Halte- und Stützmotorik, sowie der Bewegungskoordination. Zu diesen Aufgaben gehören die Lokomotion, Extremitätenkontrolle, Augenbewegungen und die Sprechmotorik.

Ist diese Bewegungskoordination gestört, spricht man von einer Ataxie, die je nach betroffenem Körperteil als Stand-, Gang-, Rumpf- oder Extremitätenataxie bezeichnet wird.

Die Sprechataxie wird auch Dysarthrie genannt.

Außerdem ist das Kleinhirn für die Korrektur von Zielbewegungen zuständig. Sind diese gestört, wird dies als Dysmetrie bezeichnet. Die Symptome können sich in überschießenden (hypermetrisch) und abgebrochenen (hypometrischen) Zielbewegungen äußern.

Als weiteres Symptom kann sich ein kinetischer Tremor zeigen, der im Verlauf einer Bewegung verstärkt auftritt (Intentionstremor).

Ist das Erstellen von Bewegungsprogrammen gestört, spricht man von einer Asynergie.

Diese ist gekennzeichnet durch eine gestörte Koordination der Bewegung an mehreren Gelenken. Die Augenbewegungsstörungen äußern sich darin, dass Augenfolgebewegungen nicht mehr glatt sondern ruckartig erfolgen („sakkadierte Blickfolge“). Sakkaden sind dysmetrisch.

Ein anderes häufiges Symptom ist ein Blickrichtungsnystagmus.

Des Weiteren ist die Fixationssuppression des vestibulo-okulären Reflexes gestört, so dass die Patienten bei Kopfbewegungen einen Gegenstand nicht mehr fixieren können.

Die Dysarthrie ist durch eine abgehackte, skandierende, in der Artikulation, aber nicht in der Wortfindung, gestörte Sprache, gekennzeichnet.

Auf Grund der funktionellen Kompartimentierung des Kleinhirns kann man von den Symptomen auf die Lokalisation der Schädigung und umgekehrt schließen.

Es lassen sich drei cerebelläre Syndrome unterscheiden:

1. Schädigungen des Vestibulocerebellum führen zu Rumpf-, Stand- und Gangataxie. Der Stand kann visuell nicht stabilisiert werden (negativer Romberg- Test). Kinder mit Medulloblastomen zeigen dieses klinische Bild typischerweise.
2. Schädigungen des Spinocerebellums führen zu Stand- und Gangataxie, der Stand kann visuell kompensiert werden (positiver Romberg- Test). Eine Extremitätenataxie ist nur gering ausgeprägt und überwiegt in den Beinen. Klinisches Beispiel ist die alkoholtoxische Kleinhirnvorderlappenatrophie.
3. Liegt die Schädigung im Pontocerebellum, führt dies zur ipsilateralen Extremitätenataxie mit begleitendem Tremor. Hierfür sind Raumforderungen oder vaskuläre Ursachen als Beispiel zu nennen.

1.4.3 Motorische Lernvorgänge

Das Gedächtnis wird in verschiedene Bereiche unterteilt. Neben dem deklarativen Wissensgedächtnis, das für episodisches und semantisches Lernen zuständig ist, wird ein prozedurales Verhaltensgedächtnis beschrieben, welches die Vorgänge für den Erwerb, das Behalten und die Ausführung motorischer Fähigkeiten beinhaltet (Timmann et al. 1998).

Assoziatives Lernen und nicht-assoziatives Lernen sind Formen des prozeduralen Verhaltensgedächtnisses.

Unter nicht-assoziativem Lernen versteht man eine Änderung des Verhaltens als Konsequenz von Wiederholungen der Reizsituation, z.B. bei der Habituation. Beim assoziativen Lernen ändert sich das Verhalten als Folge der engen zeitlichen Paarung (Assoziation) von zwei unterschiedlichen Reizen, wie z.B. bei der Konditionierung (Timmann et al. 1998).

Neben verschiedenen anderen Hirnarealen wird für das Kleinhirn eine Beteiligung an verschiedenen einfachen und komplexen motorischen Lernprozessen angenommen. Bei Patienten mit Kleinhirnerkrankungen wurden Einschränkungen beim motorischen Lernen beobachtet. Dies kann mit der Konditionierung von Schutzreflexen untersucht werden.

Auch moderne bildgebende Verfahren konnten zeigen, dass das Kleinhirn bei einfachen motorischen Lernaufgaben bei gesunden Probanden beteiligt ist.

Es werden verschiedene Hypothesen diskutiert, welche genaue Rolle das Kleinhirn bei motorischen Lernvorgängen spielt.

Zum einen wird vertreten, dass das Kleinhirn eine Aufgabe als Speicherplatz von durch Lernen erworbenen plastischen Veränderungen hat. Eine andere Theorie besagt, dass es eine Bedeutung für die Integration sensomotorischer Informationen und damit der Gewährleistung einer optimalen Bewegungsausführung hat (Timmann et al 1999).

1.5 Konditionierung

1.5.1 Klassische Konditionierung

Die klassische Konditionierung nach Pawlow ist ein Beispiel für assoziatives Lernen.

Die Grundlage hierfür ist eine unkonditionierte Reaktion (UR), z.B. Speichelfluss, die durch einen unkonditionierten Reiz (US), z.B. Futter, ausgelöst wird.

Ein neutraler Reiz, der sogenannte konditionierte Reiz (CS), z.B. eine Glocke, wird zusammen mit dem unkonditionierten Reiz dargeboten. Nach wiederholter Paarung beider Reize löst der CS (Glocke) auch ohne den US (Futter) den Speichelfluss aus, der damit zur konditionierten Reaktion (CR) wird.

Die klassische Konditionierung des Blinkreflexes ist ein Modell für assoziatives motorisches Lernen. Hierbei ist der unkonditionierte Reiz ein Luftstoß (US), der als unkonditionierte Reaktionen einen Lidschluss (UR) auslöst.

Als konditionierter Reiz dient ein Ton (CS). Nach wiederholtem gepaartem Auftreten wird der Lidschluss auch allein durch den Ton ausgelöst (konditionierte Reaktion).

Im Folgenden werden die zwei häufigsten Konditionierungsparadigmen dargestellt (Kehoe und Macrae 2002).

1.5.2 Delay-Konditionierung

Bei der Delay-Konditionierung (Abbildung 3) bleibt der konditionierte Stimulus über das gesamte CS-US Intervall bestehen und überlappt zeitlich mit dem unkonditionierten Stimulus.

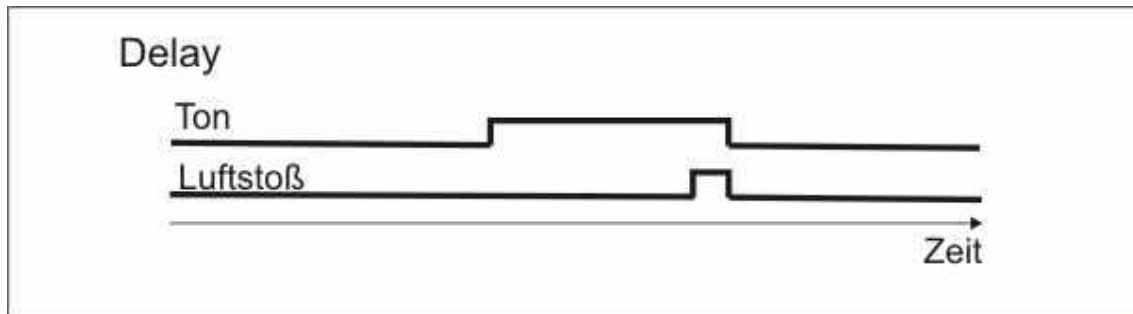


Abbildung 3 Schematische Darstellung des Delay-Paradigmas

1.5.3 Trace-Konditionierung

Bei der Trace-Konditionierung (Abbildung 4) tritt der konditionierte Stimulus nur zu Beginn des CS-US Intervalls auf. Es folgt eine stimulusfreie Pause zwischen dem Ende des konditionierten Stimulus und Beginn des unkonditionierten Stimulus.

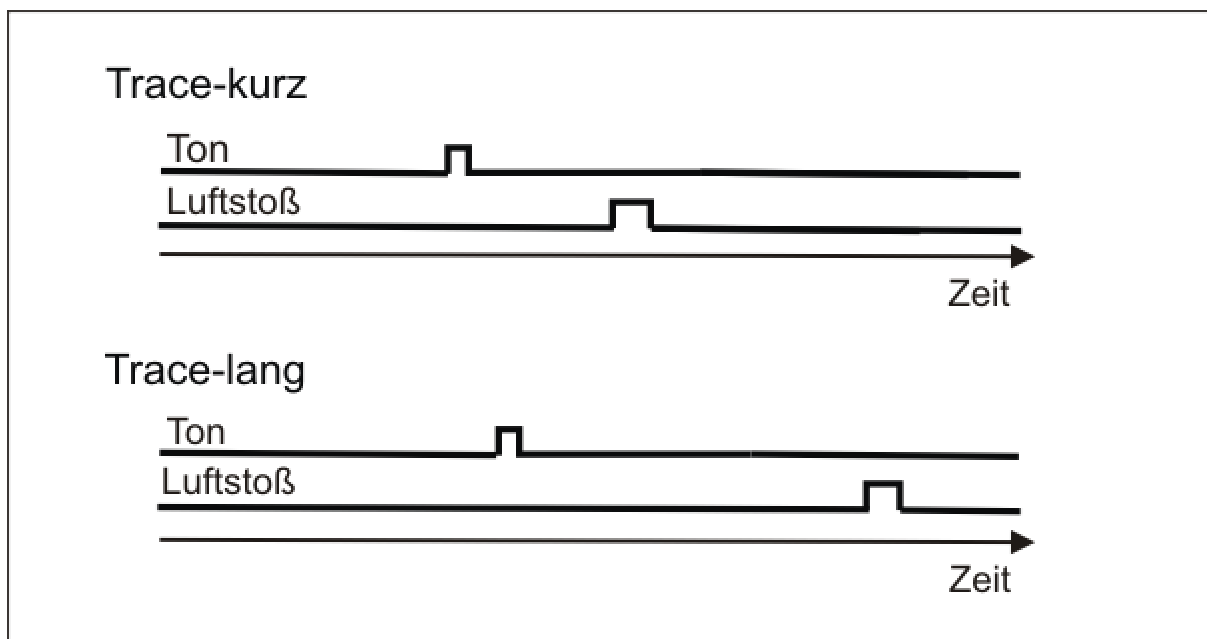


Abbildung 4 Schematische Darstellung des Trace- Paradigmas

1.6 Neuronale Verschaltung der Blinkreflexkonditionierung

Den zuvor beschriebenen Konditionierungsparadigmen liegen komplexe neuronale Verbindungen zu Grunde. Im Folgenden wird ein Modell für diese neuronalen Vorgänge dargestellt, für welches es tierexperimentelle Hinweise gibt, das aber noch nicht in allen Einzelheiten geklärt worden ist.

Ein Stimulus, der als konditionierter Stimulus (CS) gegeben wird, in diesem Fall ein Ton, erreicht über das auditorische System die pontinen Kerne.

Der Ton aktiviert Moosfasern, die an den pontinen Kernen entspringen und Informationen über den Pedunculus medialis ins Kleinhirn leiten.

Die Moosfasern bilden exzitatorische Synapsen mit den efferenten cerebellären Kernen (Nucleus interpositus) und projizieren gleichzeitig in den cerebellären Kortex, wo sie sich aufzweigen und eine Vielzahl von exzitatorischen Synapsen mit den Körner- und Golgizellen bilden (Medina et al. 2002).

Die Körnerzellen, deren Aktivität durch die Golgizellen inhibitorisch beeinflusst wird, erregen die Purkinje Zellen, die wiederum die Neuronen der cerebellären Kerne inhibieren. Die hohe Divergenz dieses Systems führt dazu, dass jede Purkinje Zelle von etwa 100.000 Körnerzellen erreicht wird (Medina et al. 2002).

Es hat sich gezeigt, dass die Aktivierung der Moosfasern eine notwendige Voraussetzung für die Blinkreflexkonditionierung ist. Experimentell konnte demonstriert werden, dass eine Inaktivierung der Moosfasern dazu führt, dass das Erlernen der Blinkreflexkonditionierung verhindert wird. Wenn nach Erwerb von konditionierten Antworten das Moosfasersystem inaktiviert wird, führt dies dazu, dass konditionierten Antworten nicht mehr generiert werden können (Medina et al. 2002).

Der Luftstoß, der als unkonditionierter Stimulus eingesetzt wird, aktiviert Kletterfasern, die ihren Ursprung in den Neuronen der unteren Olive haben.

Es werden exzitatorische Signale zu den cerebellären Kernen gesendet und über die Kletterfasern an die Purkinje Zellen im cerebellären Kortex

weitergeleitet. Hierbei aktiviert eine Kletterfaser jeweils eine Purkinje Zelle (Medina et al. 2002).

Auch hier gibt es Hinweise darauf, dass ohne die Aktivität der Kletterfasern bzw. bestimmter Gebiete der unteren Olive die einmal gelernten konditionierten Antworten wieder gelöscht werden. Es wird also deutlich, dass die Informationen des konditionierten Stimulus und des unkonditionierten Stimulus zu den cerebellären Kernen und der cerebellären Rinde vermittelt werden (Medina et al. 2002).

Obwohl es weitere Regionen des Gehirns gibt, welche die Signale empfangen, konnte gezeigt werden, dass das Kleinhirn verantwortlich ist, für die Integration der Informationen von konditioniertem und unkonditionierten Stimulus. Tierexperimentell führte eine direkte Stimulierung der pontinen Kerne und der dorsalen accessorischen Olive zu konditionierten Antworten.

Über die cerebellären Kerne werden die gesamten Efferenzen des Cerebellums durch den Pedunculus superior cerebelli zum Hirnstamm geleitet und finden Anbindung an den neuronalen Schaltkreis, der für die Kontrolle des Blinkreflexes verantwortlich ist. Dort haben die absteigenden spinalen Bahnen ihren Ursprung, die für die motorische Kontrolle sowohl direkt über Verbindungen mit dem Rückenmark, als auch indirekt über Verbindungen mit dem cerebralen Kortex verantwortlich sind. Auch auf der Ebene der cerebellären Kerne existiert eine Kopie des gesamten Körperschemas. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass eine direkte Stimulation des anterioren Anteils des Nucleus interpositus ein Blinzeln zu Folge hat (Medina et al. 2002).

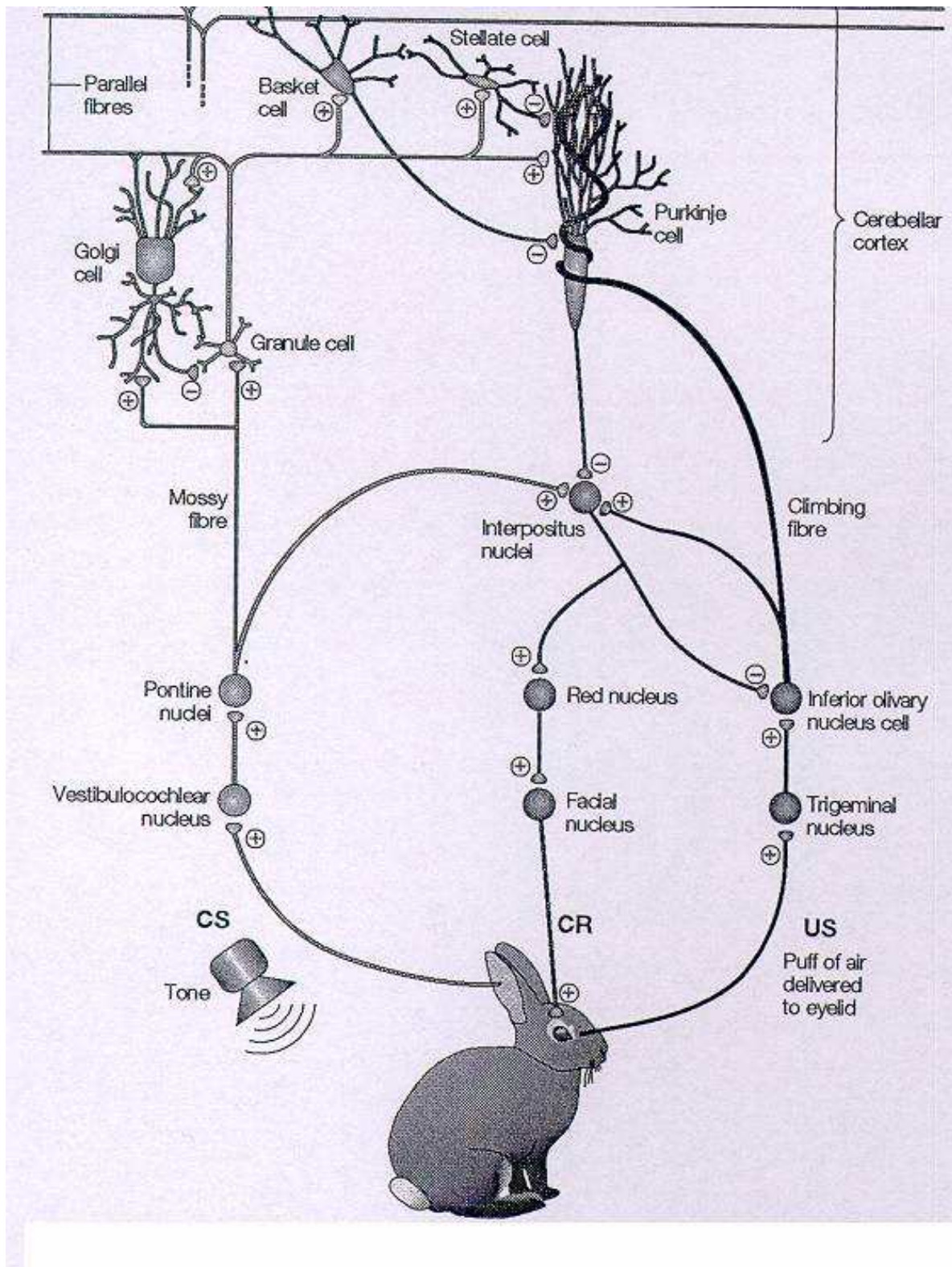


Abbildung 5 Schema zur neuronalen Verschaltung der Blinkreflexkonditionierung (aus: Medina et al. 2002): Die Abbildung zeigt vereinfacht die neuronale Verschaltung für den konditionierten Stimulus (CS), den unkonditionierten Stimulus (US) und den konditionierten Antworten (CR). Plus und Minus weisen auf exzitatorische bzw. inhibitorische Synapsen hin

1.7 Fragestellung

In früheren Studien (Reynolds 1945; Lipkin und Moore 1966; Kimble und Reynolds 1967) wurde versucht, bei gesunden Probanden die jeweiligen CS-US Interstimulusintervalle zu ermitteln, in denen für die Delay- und die Trace-Konditionierung optimale Lernraten erzielt werden.

Es konnte gezeigt werden, dass sich die Ergebnisse für Delay- und die Trace-Konditionierung nicht voneinander unterscheiden, wenn das CS-US bzw. das Trace-Intervall relativ kurz sind. So ergab eine Studie von Finkbiner und Woodruff-Pak (1991), dass ein 500 ms langes Trace-Intervall zu einer vergleichbaren Lernrate führte wie ein 400 ms langes Delay-Paradigma. Die Autoren konnten zeigen, dass ein 800 ms langes Trace-Intervall notwendig war, um die Trace-Konditionierung schwieriger zu gestalten.

Viele human- und tierexperimentelle Studien zeigen, dass das Kleinhirn und der Hirnstamm eine bedeutende Rolle beim Erwerb der konditionierten Blinkreflexantworten im Delay-Paradigma haben. Verschiedene Regionen des Großhirns, auch der Hippocampus, sind hieran nicht essentiell beteiligt, könnten aber eine modulierende Rolle spielen (Bloedel und Bracha 1995; Thompson et al. 1997; Gerwig et al. 2007.) Der Hippocampus scheint bei der Trace-Konditionierung wichtig zu sein, wenn ein langes Trace-Intervall benutzt wird (Christian und Thompson 2003).

Die Länge des Trace-Intervalls, welche darüber entscheidet, ob die Trace-Konditionierung von Hippocampusfunktionen abhängig ist, variiert zwischen den einzelnen Spezies (Green und Woodruff-Pak 2000). Clark und Squire (1998) zeigten, dass beim Menschen eine Länge von 1000 ms dafür notwendig ist, während bei Tieren kürzere Intervalle ausreichend sind, z.B. 500 ms beim Kaninchen (Solomon et al. 1986; Moyer et al. 1990; Kim et al. 1995) und 250 ms bei Ratten (Weiss et al. 1999) und Mäusen (Tseng et al. 2004).

Während die Rolle des Kleinhirns bei der Delay- Konditionierung mit kurzem CS-US Intervall häufig untersucht wurde, haben bisher nur wenige Studien, die

meisten davon in tierexperimentellen Arbeiten, bisher die Bedeutung des Kleinhirns in der Trace- Konditionierung untersucht.

In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass Läsionen im Hippocampus das Erlernen, die Speicherung und das Timing der konditionierten Antworten im Trace Paradigma stören (Solomon et al. 1986; Moyer et al. 1990; Green and Woodruff-Pak 2000).

Auch beim Menschen zeigten Untersuchungen, dass die Trace-Blinkreflexkonditionierung bei Patienten mit hippocampalen Läsionen beeinträchtigt ist (McGlinchey-Berroth et al. 1997; Clark and Squire 1998).

Die tierexperimentellen Befunde von Woodruff-Pak et al. (1985) sprechen dafür, dass auch das Kleinhirn eine Rolle bei der Trace-Blinkreflexkonditionierung spielt. In ihrer Arbeit konnten sie zeigen, dass Kaninchen eine signifikant verminderte Rate an konditionierten Antworten im Trace-Paradigma aufwiesen, wenn dem Tier vor der Testung Läsionen im Kleinhirn beigebracht wurden, die den Nucleus interpositus mit einschlossen.

In neueren Studien wurde auch bei Ratten gezeigt, dass große cerebelläre Läsionen, welche die Kleinhirnerne einschlossen, dazu führten, dass die Lernrate der konditionierten Antworten verringert wurde (Takehara et al. 2003). Weitere tierexperimentelle Studien an Katzen und Ratten unterstützen die Annahme, dass der Nucleus interpositus sowohl in der Delay, als auch in der Trace-Blinkreflexkonditionierung von Bedeutung ist (Gruart et al. 2000, Green und Arenos 2007). Eine Studie, die den Metabolismus mit radioaktiv markierter Glukose bei Ratten untersuchte, zeigte während der Trace- und Delay-Konditionierung eine erhöhte Aktivierung, sowohl im cerebellären Kortex als auch im Nucleus interpositus (Plakke et al. 2007).

Einige andere tierexperimentelle Untersuchungen versuchen die Rolle des cerebellären Kortex für die Trace Konditionierung einzuschätzen.

In der oben genannten Studie von Woodruff-Pak et al. (1985) führten Läsionen im lateralen und superioren cerebellären Kortex dazu, dass die Akquisition von

konditionierten Antworten bei der Trace-Blinkreflexkonditionierung vorübergehend gestört war.

Dagegen untersuchten in anderen Arbeiten Kishimoto et al. (2001) und Woodruff-Pak et al. (2006) Mäuse, die durch eine Mutation ein Defizit in der cerebellären Langzeitdepression (LTD) an den Purkinje Zell-Synapsen aufwiesen, welches zu einer experimentell induzierten Funktionsstörung des cerebellären Kortex führte. Dort zeigte sich, dass zwar der Erwerb konditionierter Antworten in der Delay-Konditionierung beeinträchtigt war, aber in der Trace-Blinkreflexkonditionierung kein Defizit auftrat. Ebenfalls ergab sich kein signifikanter Effekt der kortikalen Dysfunktionen auf das Timing der konditionierten Antworten.

Um zu beurteilen, ob das menschliche Kleinhirn eine Rolle bei dieser Form des assoziativen Lernens spielt, wurden in der hiesigen Arbeitsgruppe des Motoriklabors Patienten mit fokalen Läsionen in den cerebellären Hemisphären untersucht.

In Übereinstimmung mit den oben genannten tierexperimentellen Studien waren die Lernrate (d.h. CR-Inzidenzen) bei den Patienten signifikant reduziert, deren Läsionen den Nucleus interpositus einschlossen (Gerwig et al. 2006). Bei Patienten deren Läsionen sich nur auf den cerebellären Kortex beschränkten, konnten keine Lerndefizite festgestellt werden. Letztendlich konnte aber eine zusätzliche Rolle des Kleinhirnkortex bei der Trace-Blinkreflexkonditionierung nicht sicher ausgeschlossen werden, da die fokalen Läsionen möglicherweise nicht ausgedehnt genug waren oder ihre Funktion zumindest zum Teil infolge der Plastizität der Kleinhirnrinde durch andere Areale übernommen werden konnten.

Aus diesem Grund erschien es sinnvoll, die Trace-Blinkreflexkonditionierung an einer Patientengruppe zu untersuchen, die ausgedehnte cerebelläre kortikale Degenerationen aufwies.

Bisher gab es nur zwei Fallberichte über die Verwendung der Trace-Blinkreflexkonditionierung bei Patienten mit cerebellärer kortikaler Degeneration (Fortier et al. 2000; Richter et al. 2005). Bei Fortier et al. blieben sowohl die Trace-, als auch die Delay-Konditionierung unbeeinträchtigt, während in einer

Konditionierungsaufgabe der Erwerb der konditionierten Antworten, gekoppelt mit einer zeitlichen Diskrimination, beeinträchtigt war.

In dem Fallbericht von Richter et al. wurde eine Patientin mit cerebellärer Agenesie, das heißt einem anlagebedingten kompletten Fehlen des Kleinhirns, mit einem kurzen Trace-Intervall untersucht. Die CR- Akquisition war deutlich beeinträchtigt, aber es konnten keine Rückschlüsse bezüglich der Rolle des Kleinhirnkortex und der Kerne gezogen werden.

In der vorherigen Studie unserer Arbeitsgruppe (Gerwig et al. 2006) wurde ein einziges, relativ kurzes Trace-Intervall verwendet (400 ms), damit die Daten mit einer früheren Delay Studie verglichen werden konnten, die das gleiche CS-US Intervall verwendete.

Im Gegensatz dazu wurde in anderen Studien, in denen Patienten mit Amnesie oder Patienten mit hippocampalen Läsionen untersucht wurden, Trace Intervalle mit längeren Pausen zwischen den Stimuli benutzt (McGlinchey-Berroth et al. 1997; Clark and Squire 1998). In der Studie von McGlinchey-Berroth et al. wurden Patienten mit Amnesie mit Trace-Intervallen von 500 ms, 750 ms und 1000 ms Länge untersucht. Clark und Squire verwendeten Trace-Intervalle zwischen 500 ms bis 1000 ms Länge. In einer früheren Studie waren Patienten mit Amnesie bei bilateralen hippocampalen Läsionen unter Verwendung eines kürzeren Trace-Intervalls nicht in der Konditionierung beeinträchtigt.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, zu prüfen, ob die Trace-Blinkreflexkonditionierung durch cerebelläre Degenerationen beeinträchtigt wird.

Dazu wurden bei jedem Teilnehmer ein langes und ein kurzes Trace Intervall in randomisierter Reihenfolge verwendet. Im Einzelnen wurden neben den Konditionierungsraten die Fähigkeit zur Extinktion der Antworten in den einzelnen Gruppen untersucht.

Ebenfalls wurde untersucht, welche Rolle die Awareness, also die Bewusstwerdung des Versuchablaufs, für den Erfolg der Konditionierung spielt und ob für die einzelnen Paradigmata Unterschiede existieren.

2. Methodenteil

2.1 Studienteilnehmer

Es wurden acht Patienten mit degenerativen Kleinhirnerkrankungen untersucht. Die Gruppe setzte sich zusammen aus sechs Frauen und zwei Männern, deren mittleres Alter bei 55.5 ± 10.2 Jahren lag und deren Altersverteilung von 42 bis 69 Jahren reichte. Vier der Patienten waren an einer SAOA (Sporadische Ataxie des Erwachsenenalters unklarer Genese), drei an einer ADCA III (Autosomal dominante cerebelläre Ataxie Typ III) und ein Patient an einer SCA 6 (Spinocerebelläre Ataxie Typ 6) erkrankt.

Die Kontrollgruppe bestand aus acht nach Alter und Geschlecht gematchten gesunden Probanden, deren mittleres Alter bei 54.9 ± 4.4 Jahren lag, die Altersverteilung reichte von 45 bis 59 Jahren.

Die mittlere Krankheitsdauer bei den Patienten betrug 5,7 Jahre, bei einer Erkrankungsdauer von 23 Monaten bis zu 10 Jahren.

Alle Patienten und Kontrollpersonen hatten zuvor noch nicht an einem Versuch zur Blinkreflexkonditionierung teilgenommen.

Die neurologische Untersuchung basierte auf der International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS) von Trouillas et al. (1997), der Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA; Schmitz-Hübsch et al. 2006), sowie dem Inventory of Non-Ataxia Symptoms (INAS).

Die Kontrollpersonen wiesen keine neurologischen Auffälligkeiten auf und auch in der Anamnese fanden sich keine Hinweise für neurologische Erkrankungen. Beide Gruppen nahmen keine zentral wirksamen Medikamente ein.

Vor der Testung wurde bei den Studienteilnehmern die Hörschwelle für jedes Ohr bei einer Frequenz von 2000 Hz getestet, die der Frequenz des konditionierten Stimulus entspricht.

Die Hörschwellen wurden beidseits in dB SPL über einem Hintergrundrauschen gemessen und lagen in beiden Gruppen in den normalen altersgemäßen Bereichen.

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Patienten und den Kontrollpersonen (Patienten: rechte Seite: 29.4 ± 3.2 dB, linke Seite 31.3 ± 4.4 dB; Kontrollpersonen: rechte Seite 33.1 ± 5.3 dB, linke Seite 33.8 ± 5.2 dB; $p > 0.2$, ungepaarter t-Test).

In Tabelle 1 werden die klinischen Daten und Befunde der Bildgebung der Patienten zusammengefasst.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Duisburg-Essen begutachtet und befürwortet, alle Probanden wurden über die Inhalte der Studie und die MRT-Aufnahme mündlich und schriftlich aufgeklärt und unterschrieben eine Einverständniserklärung.

Erkrankung		International Cooperative Ataxia Rating Scale									SARA	MRI Volumen	
		Alter (J)	Geschlecht	Krankheits dauer (J)	Stand u. Gang (0-34)*	Extremitäten obere (0-36)	Extremitäten untere (0-16)	Sprache (0-8)	Okulo- motorik (0-6)	Total (0-100)	Total (0-40)	Mittleres Volumen (%TICV)	
												Cerebellum	Cerebrum
cer-01	SCA 6	69	m	1	7	3	4	4	3	21	9.5	6.88	76.40
cer-02	ADCA III	61	f	2.5	1	0	0	0	5	6	0	9.19	75.51
cer-03	ADCA III	42	f	10	0	5	0	2	0	7	4.5	4.69	75.37
cer-04	ADCA III	45	f	8	7	8	6	0	1	22	9.5	7.06	77.89
cer-05	SAOA	47	m	4	4	6	2	4	1	17	9.5	6.37	75.92
cer-06	SAOA	66	f	5	8	9	6	1	2	26	11.5	7.91	76.45
cer-07	SAOA	53	f	4	18	13	10	0	1	42	9.0	8.24	80.26
cer-08	SAOA	60	f	10	11	5	6	2	0	24	10.5	7.27	78.83
Patienten (Gruppendurchschnitt, n=8)												7.20 ± 1.34	77.1 ± 1.75
Probanden (Gruppendurchschnitt, n=7)												9.46 ± 0.57	77.2 ± 2.77

Tabelle 1: Klinische Zeichen und Daten der Bildgebung von Patienten und Kontrollprobanden. Der Ataxie Score basiert auf der „International Cooperative Ataxia Rating Scale“ (Trouillas et al. 1997) und Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA, Gesamtergebnis) (Schmitz-Hübsch et al. 2006).
* Punkte des Ataxie Scores, wobei 0 eine unauffällige Untersuchung kennzeichnet. In Klammern jeweils der minimale und maximale erreichbare Punktwert.
Abkürzungen: (J)= Jahre, (m)= männlich, (f)= weiblich, cer-Nr: Patient mit cerebellärer Erkrankung, SCA 6= Spinocerebelläre Ataxie Typ 6, ADCA III= Autosomal dominante Ataxie Typ III, SAOA = sporadische Ataxie des Erwachsenenalters, % TICV= Totales intracranielles Volumen in %

2.2 Bildgebende Verfahren

Von jedem Probanden wurden drei-dimensionale (3D) MRT-Aufnahmen gemacht. Die T1 gewichteten MPRAGE Sequenzen wurden mit einem Siemens Sonata 1.5 Tesla MR Gerät aufgenommen (TR=2,400 ms, TE=4.38 ms, FOV=256 mm, 160 slices, Voxel Größe $1.0 \times 1.0 \times 1.0 \text{ mm}^3$).

Mit Hilfe der Software ECCET, die für Visualisierung und Segmentation von MRT und CT Daten entwickelt wurde (<http://www.eccet.de/index.html>), wurde auf einem Linux PC das Hirnstammvolumen, das totale cerebelläre Volumen, das totale intracranielle Volumen (TICV), sowie das ganze Gehirnvolumen halbautomatisch berechnet (Dimitrova et al. 2006).

Nachdem die T1 gewichteten MPRAGE Volumen mit einem Gauss Filter, der das Rauschen reduziert (Winkler et al. 1999), bearbeitet wurden, wurde der Hirnstamm halbautomatisch segmentiert und von den Pedunculi cerebelli getrennt, die in das cerebelläre Volumen mit hineingerechnet wurden.

Eine vollautomatische Segmentierung des Hirnstamms gestaltete sich als schwierig, da der Hirnstamm und die Pedunculi cerebelli im MRI die gleichen Intensitäten aufweisen.

Daher wurde der Hirnstamm oberhalb und unterhalb der Pedunculi cerebelli manuell in ausgewählten axialen Schichten markiert. Dort kann er deutlich vom angrenzenden Gewebe unterschieden werden.

Die markierten Schichten (mit einer jeweiligen Distanz von ca. 20 mm untereinander) wurden mit einem Interpolationsmodul des ECCET Programms (genannt "Hull") verbunden. Dieses Interpolationsmodul liefert eine reproduzierbare und Auswerter-unabhängige Separation des Hirnstamms von den Kleinhirnschenkeln.

Danach wurde das Kleinhirn halbautomatisch markiert und mit einem 3D Füllungsalgorithmus segmentiert, wodurch zwischen Hirngewebe und umgebender cerebrospinaler Flüssigkeit (Liquor) unterschieden werden kann. Der Vermis und die beiden Hemisphären wurden manuell getrennt.

Das totale intracranielle Volumen beinhaltet das Gehirn und den Liquor cerebrospinalis von kaudal bis zum Foramen magnum. Es wurde manuell auf jedem zehnten der 160 sagittalen Schnitte der gefilterten MPRAGE Bilder markiert.

Die segmentierten einzelnen Schnitte wurden mit Hilfe des "Hull" Interpolationsmoduls zu einem 3D Objekt verbunden, welches den Kortex und den cerebrospinalen Raum beinhaltete.

Um das gesamte Hirnvolumen abzuschätzen, wurden auf den initial gefilterten MR Volumen, die graue und weiße Substanz des Kleinhirns, des Kortex und des Hirnstamms automatisch markiert und danach mit dem oben genannten 3D Füllungsalgorithmus segmentiert. Das so produzierte 3D Volumen wurde visuell geprüft und, wo nötig, manuell angeglichen.

Um das Volumen in Kubikmillimetern zu bestimmen, wurde die Anzahl der Voxel des entsprechenden Volumens mit dem Volumen eines Voxels des MR Volumens multipliziert. Alle Volumina wurden in % TICV angegeben.

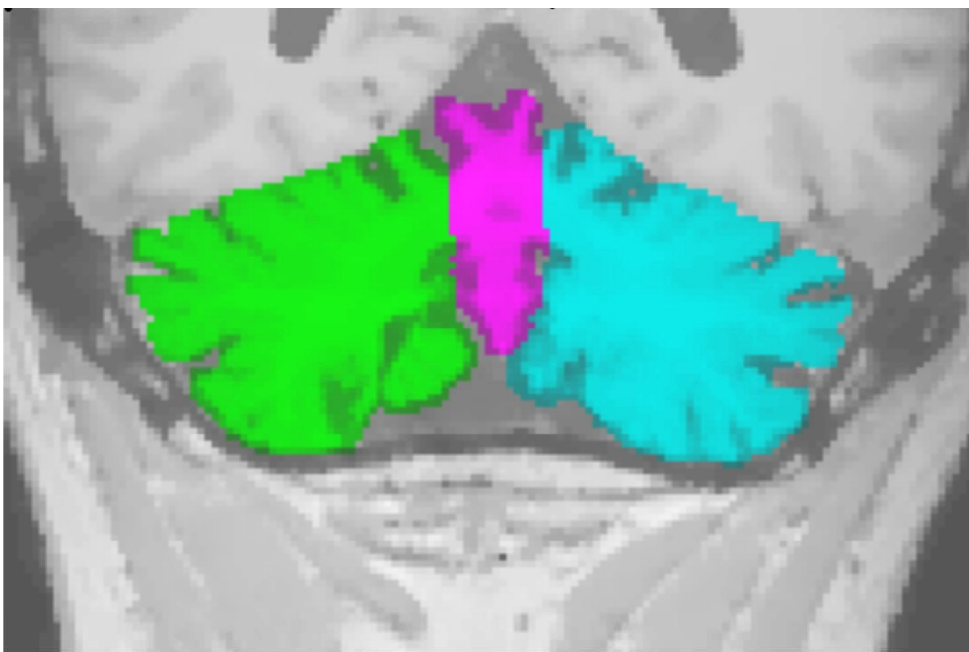


Abbildung 6 Beispiel für eine MRT- Bearbeitung des Cerebellums in der Coronarebene
Grün= linke Kleinhirnhemisphäre, Rosa= Vermis, Blau= rechte Kleinhirnhemisphäre

2.3 Blinkreflexkonditionierung

Jeder der Studienteilnehmer wurde an zwei Tagen im Abstand von einer Woche mit der Blinkreflexkonditionierung getestet. Dabei wurden zwei verschiedene Trace-Intervalle in randomisierter Reihenfolge verwendet, ein kurzes (400 ms) und ein langes (1000 ms). Das kurze Trace-Intervall von 400 ms wurde in Übereinstimmung mit den bei uns im Labor zuvor durchgeführten vorherigen Delay und Trace Studien gewählt (Gerwig et al. 2003, 2006).

Als konditionierter Stimulus (CS) wurde ein 2000 Hz Ton über eine Dauer von 40 ms präsentiert, dem ein Trace-Intervall von entweder 400 ms oder 1000 ms Länge folgte. Zum Ende dieses Intervalls wurde ein Luftstoß mit einer Dauer von 100 ms als unkonditionierter Stimulus (US) verwendet, der über eine Düse in einer Distanz von etwa 10 mm an den äußeren Kanthus des Auges geblasen wurde. In jeder Sitzung wurden der Ton und der Luftstoß unilateral auf der rechten Seite appliziert.

Zwischen den Studienteilnehmern wurde im Wechsel die Konditionierung mit dem langen oder kurzen Trace-Intervall begonnen.

Die Teilnehmer saßen während der Testung bequem auf einem Stuhl und schauten zum Erhalt der Aufmerksamkeit und Vigilanz einen Stummfilm an (Mr. Bean DVD Kollektion). Sie wurden vor der Testung nur darüber informiert, dass ein Luftstoß neben das Auge appliziert würde und dass sie einen Ton hören würden. Der Hintergrund der Studie und Details der Blinkreflexkonditionierung wurden ihnen zu diesem Zeitpunkt hingegen nicht erklärt, um etwaige Einflüsse auf den Konditionierungserfolg zu vermeiden.

Die spontane Blinkrate wurde an jedem Testtag jeweils eine Minute lang zum Beginn und zum Ende der Testung gemessen.

Zu Beginn des Experiments wurden zehn CS-Reize und zehn US-Reize einzeln und ungepaart in randomisierter Reihenfolge präsentiert, gefolgt von hundert gepaarten CS-US-Durchgängen und schließlich 30 CS-Reize zur Extinktion. Das Intervall zwischen den einzelnen Durchgängen variierte randomisiert während des Experiments zwischen 10 und 35 Sekunden. Nach jedem Testtag wurde den Studienteilnehmern ein Fragebogen zur Awareness ausgeteilt.

2.4 Datenanalyse

Die elektromyographische (EMG) Aktivität wurde mit Oberflächenelektroden bilateral vom M. orbicularis oculi registriert. Die Elektroden wurden nasal und am unteren Augenlid fixiert. Die Signale wurden mit einem EMG-Messverstärker aufgenommen (Abtastfrequenz 1000 Hz, Bandfilterfrequenz zwischen 100 Hz und 2 kHz). Die EMG's wurden gleich gerichtet und darüber hinaus offline gefiltert (100 Hz). Die EMG-Aufnahmen wurden mit einer kommerziellen Software (Axograph 4.9, Axon Instruments Inc., USA) für jeden einzelnen Durchgang ausgewertet.

Hierbei wurden die einzelnen Durchgänge verblindet ausgewertet. Das heißt, dass dem Auswerter nicht bekannt war, ob der Daten einem Patienten oder einer Kontrolle zuzuordnen waren.

In den gepaarten und Extinktionsdurchgängen wurden die konditionierten Blinkreflexantworten innerhalb des CS-US Intervalls anhand des EMG visuell identifiziert. Ausgewertet wurden Antworten, die sich signifikant von der EMG Grundlinie vor Auftreten des konditionierten Stimulus abhoben.

Um als CR gezählt zu werden, wurden zwei alternative Bedingungen definiert. Gezählt wurden entweder EMG Aktivitäten, die mindestens 50 ms anhielten oder EMG Aktivitäten, die in unconditionierte Antworten übergingen. Diese mussten mindestens die doppelte Amplitude der mittleren EMG Grundlinienaktivität aufweisen und eine deutliche Steigung zeigen.

Antworten, die im Intervall während der ersten 150 ms nach dem CS-Beginn auftraten, wurden als reflexbedingte Antwort auf den Ton (sogenannte Alpha-Blinks) betrachtet und nicht als konditionierte Antworten gezählt (Woodruff-Paket et al. 1996). Durchgänge, in denen spontane Blinks vor dem CS-Beginn auftraten, wurden aus der Analyse ausgeschlossen (Bracha et al. 2000).

Die Gesamtanzahl der Durchgänge wurde unterteilt in Blöcke mit jeweils zehn Durchgängen. Die Anzahl der konditionierten Antworten wurde ausgedrückt als

Prozentwert bezogen auf die Antworten in jedem einzelnen 10er Block (Prozentwert der CR-Inzidenzen) und bezogen auf die totale Anzahl der Durchgänge (totaler Prozentwert der CR-Inzidenzen).

Um die Extinktionsraten zu bewerten, wurden die CR-Inzidenzen des letzten Blocks der gepaarten Durchgänge (Block 10) mit den CR-Inzidenzen des letzten Blocks der Extinktions-Durchgänge (Extinktionsblock 3) verglichen, da die Messung von Extinktionen an einen vorherigen Erwerb von konditionierten Antworten gebunden ist.

Zusätzlich wurde die Veränderung der CR-Inzidenzen über die drei Extinktionsblöcke analysiert. Es wurden nur die Extinktionen bei den Studienteilnehmern bewertet, die mindestens eine konditionierte Antwort im ersten Extinktionsblock gezeigt haben (Gerwig et al. 2006; Kronenbuerger et al. 2007).

2.5 Timing

Das Timing der konditionierten (CRs) und unkonditionierten (URs) Blinkreflexantworten wurde, sowohl in den gepaarten, als auch in den ungepaarten Durchgängen, analysiert.

Die Latenzzeit (Dissertatio) der unkonditionierten Antworten wurde gemessen als Zeitabstand zwischen Beginn des unkonditionierten Stimulus (US) und der unkonditionierten Reaktion (UR). Der Onset der konditionierten Antwort (CR) wurde als Zeitabstand zwischen Beginn der konditionierten Reaktion und dem Beginn des unkonditionierten Stimulus gemessen (US). Die Peaktime wurde ausgedrückt als Zeitpunkt der maximalen Amplitude der UR und CR in Bezug zum Luftstoß (US). Der Zeitpunkt des Luftstoßes wurde als 0 ms gesetzt. CR Onset und CR Peaktime wurden somit in negativen Werten ausgedrückt. Für den UR Onset und UR Peaktime ergeben sich dementsprechend positive Werte.

Der Onset der Antworten wurden definiert als der früheste Zeitpunkt, ab dem im EMG Aktivitäten signifikant über das Grundlinienlevel hinaus gingen. In dem Fall, dass mehrere Peaks sichtbar wurden, wurde der Onset des Peaks mit der höchsten Amplitude markiert.

Die Amplitude der Antworten wurde auf Grund methodischer Aspekte nicht analysiert. Amplituden von EMG-Antworten, die auf Messungen mit Oberflächenelektroden basieren, werden von Unterschieden der Hautoberfläche der einzelnen Studienteilnehmer beeinflusst. Deswegen müssen absolute, nicht normalisierte EMG Amplituden mit Vorsicht behandelt werden. Die EMG Amplituden werden üblicherweise normalisiert betrachtet.

In vorherigen Studien des Labors (Gerwig et al 2004) sind bei Patienten mit fokalen einseitigen cerebellaren Läsionen die Antwortamplituden der betroffenen Seite auf die Antwortamplitude der nicht betroffenen Seite normalisiert worden. Dies war in der vorliegenden Studie nicht möglich, da alle Patienten eine cerebelläre Degeneration mit diffuser kortikaler Schädigung aufwiesen und nur eine Seite getestet wurde.

2.6 Awareness (Bewusstwerden des Versuchsablaufs)

Nach jeder Konditionierungssitzung wurden die Studienteilnehmern anhand eines fünfzehn Fragen umfassenden Fragebogens mit Wahr-Falsch-Aussagen über die Details der Art der Stimuli befragt, d.h. es musste mit „Ja“ oder „Nein“ geantwortet werden. Die Fragen bezogen sich nur auf den mittleren, hundert Durchgänge umfassenden Teil der Untersuchung, in dem Luftstoß und Ton gepaart präsentiert wurden.

Die ersten acht Fragen beschäftigten sich mit der Identifizierung der Stimuli Ton und Luftstoß und der möglichen Reaktionen auf diese Stimuli:

- I. Es wurde regelmäßig ein Ton eingespielt,
- II. Es wurde regelmäßig ein Luftstoß neben das Auge gesetzt,
- III. Der Ton wurde immer auf derselben Seite wie der Luftstoß gespielt,
- IV. Der Ton wurde Seiten wechselnd gespielt,
- V. Der Luftstoß hatte keine spezielle Reaktion zur Folge,
- VI. Die Reaktion auf den Luftstoß ist ein Augenschluss,
- VII. Die Reaktion auf den Ton ist ein gelegentlicher Augenschluss,
- VIII. Zwischen Ton und Luftstoß bestand eine bestimmte Reihenfolge.

Die verbliebenen sieben Fragen beschäftigten sich damit, ob es zwischen den beiden Stimuli einen Zusammenhang gab und ob es eine bestimmte Reihenfolge der Stimuli gab:

- I. Der Luftstoß kam direkt vor dem Ton,
- II. Der Luftstoß kam direkt nach dem Ton,
- III. Der Ton kam direkt vor dem Luftstoß,
- IV. Der Ton kam direkt nach dem Luftstoß,
- V. Ton und Luftstoß lagen immer zeitlich dicht beieinander,
- VI. Ton und Luftstoß lagen gelegentlich zeitlich dicht beieinander,
- VII. Der Ton sagte voraus, wann der Luftstoß kam.

Es wurde definiert, dass Studienteilnehmer, die drei oder mehr Fragen falsch beantworteten, den Ablauf der Reize während der Untersuchung nicht bewusst wahrgenommen haben und somit als „unaware“ (Manns et al. 2000) galten.

Die mittlere Anzahl der CR-Inzidenzen wurden zwischen den Studienteilnehmern mit und ohne Awareness verglichen. Dazu wurden ungepaarte *t*-Tests in der Kontroll- und Patienten- Gruppe benutzt.

2.7 Statistik

Die Ergebnisse der MR-Volumetrie wurden mit Hilfe ungepaarter *t*-Tests zwischen den beiden Gruppen verglichen. Zusätzlich wurde eine lineare Regressionsanalyse berechnet, indem die CR-Inzidenzen und das Volumen der rechten cerebellären Hemisphäre der Patientengruppe korreliert wurde.

Diese Korrelation wurde durchgeführt, da konditionierter und unkonditionierter Stimulus rechts appliziert worden waren, und aus tierexperimentellen Arbeiten bekannt ist, dass die ipsilaterale Hemisphäre von entscheidender Bedeutung für die Blinkreflex-Konditionierung ist.

Für die gepaarten Durchgänge wurde eine Varianzanalyse (ANOVA für wiederholte Messungen) mit den CR-Inzidenzen als abhängige Variable, den Blöcken (1-10) und dem Trace-Intervall (kurz vs. lang) als Innersubjektfaktor und der Gruppe (Kontrollen vs. Patienten) als Zwischensubjektfaktor berechnet.

Für die post-hoc-Analyse wurde eine ANOVA für die beiden Trace-Intervalle separat berechnet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0.05$ gesetzt. Für alle Effekte wurden die Freiheitsgrade, wenn notwendig, nach Greenhouse und Geisser angepasst.

Dementsprechend wurde eine ANOVA für die spontane Blinkrate, das Timing der konditionierten und unkonditionierten Blinkreflexantworten, den Effekt der Awareness und der Extinktion berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Auswertung der MRT-Daten

Bei den Kontrollprobanden fanden sich in der Kernspintomographie keine Auffälligkeiten.

Alle Patienten wiesen eine cerebellären Atrophie unterschiedlichen Ausmaßes auf, wobei weder der Hirnstamm noch das Großhirn betroffen waren.

Vergleicht man die Volumina des Kleinhirnwurms und der rechten und der linken Kleinhirnhemisphäre normalisiert auf das totale intracranielle Volumen zwischen Patienten und Kontrollen (s.o.), so ergab sich, dass die Volumina der Patienten signifikant reduziert waren im Vergleich zu den Kontrollprobanden ($p < 0.001$, ungepaarter t -Test), siehe Abbildung 7.

Das normalisierte Volumen des Großhirns zeigte zwischen den beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied.

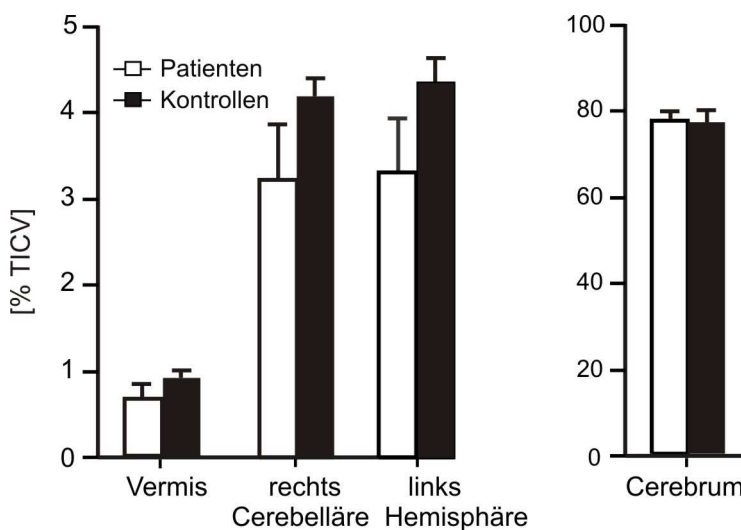


Abbildung 7 Volumen der Kleinhirnstrukturen und Volumen des Großhirns in Prozent des totalen intracraniellen Volumen (Kontrollgruppe weiße Säulen, Patientengruppe schwarze Säulen)

3.2 Auswertung der konditionierten Antworten

Die mittlere Inzidenz \pm SE (Standard error) der konditionierten Blinkreflexantworten ist in der Abbildung 8 dargestellt. Verglichen werden die Daten von Patienten und Kontrollen, sowohl im langen, als auch im kurzen Trace Intervall.

Im kurzen Intervall ist die mittlere totale CR-Inzidenz der cerebellären Patienten ($10.6 \pm 6.8\%$) gegenüber der Kontrollgruppe ($28.4 \pm 19.7\%$) reduziert (Abbildung 8 A).

Im langen Fenster lagen die mittleren Konditionierungsraten von Patienten ($21 \pm 12.7\%$) und Kontrollen ($24.5 \pm 17.9\%$) innerhalb des gleichen Bereichs (Abbildung 8 B).

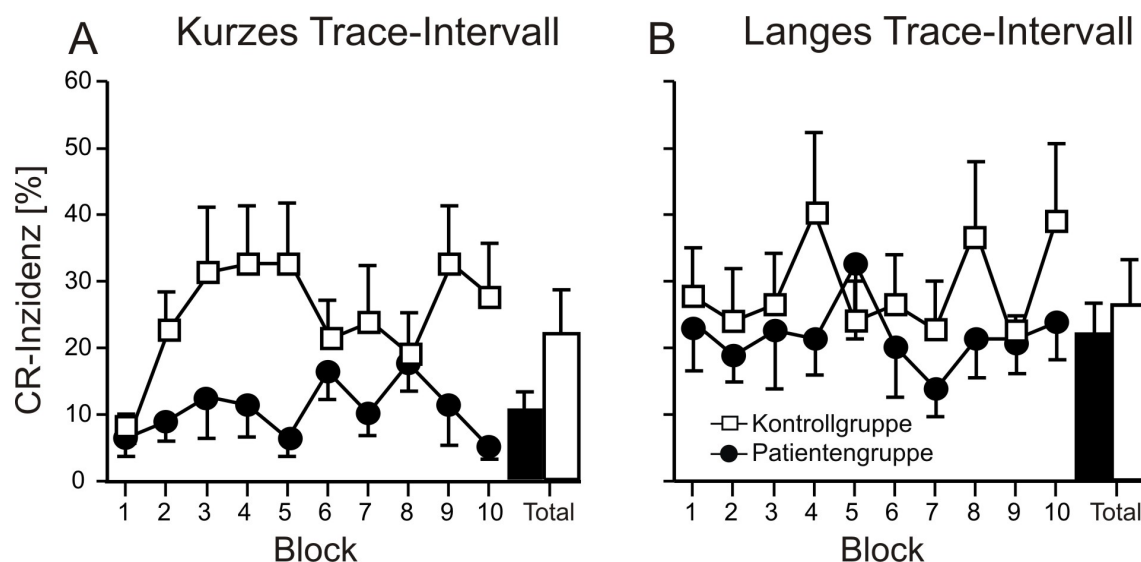


Abbildung 8 A Darstellung der Konditionierungsraten im kurzen Trace- Intervall; Abbildung 8 B Darstellung der Konditionierungsraten im langen Trace- Intervall (Kontrollgruppe weiße Säulen, Patientengruppe schwarze Säulen)

Ob zuerst das kurze oder das lange Trace-Intervall getestet wurde, machte keinen Unterschied für die Konditionierungsraten. Die Lernrate im langen Trace-Intervall lag nicht höher bei den Studienteilnehmern, die zuerst mit dem kurzen Trace-Intervall getestet wurden, verglichen mit den Teilnehmern, die zuerst im langen Trace-Intervall getestet worden waren.

Die Varianzanalyse für wiederholte Messungen wurde berechnet mit der Prozentzahl der konditionierten Antworten als abhängige Variable, Blöcke (1-10) und Trace Intervall (kurz vs. lang) als Innersubjektfaktoren und Gruppe (Kontrollen vs. Patienten) als Zwischensubjektfaktor. Es zeigten sich signifikante Effekte des Trace-Intervalls [kurz vs. lang; $F(1,14) = 4.9$; $p=0.043$], der Blöcke [10 Blöcke mit jeweils 10 Durchgängen; $F(1,9) = 2.0$; $p = 0.042$] und des Trace-Intervalls X Block Interaktionseffekt [$F(1,9) = 2.5$; $p = 0.016$].

Der Trace-Intervall x Block x Gruppe Interaktionseffekt war ebenfalls signifikant [$F(1,9) = 2.5$; $p = 0.011$]. Der Gruppeneffekt war nicht signifikant [$F(1,14) = 2.5$; $p = 0.138$].

Die *post hoc* Analyse ergab für das kurze Trace-Intervall signifikante Effekte bezogen auf die Blöcke [$F(1,14) = 2.8$; $p = 0.005$], die Block x Gruppe Interaktion [$F(1,14) = 2.6$; $p = 0.010$] und den Gruppeneffekt [$F(1,14) = 4.7$; $p = 0.047$].

Bezüglich des langen Trace-Intervalls war der Blockeffekt annähernd signifikant [$F(1,14) = 1.9$; $p = 0.067$], die Block X Gruppeninteraktion und der Gruppeneffekt waren nicht signifikant [$F(1,14) = 1.3$; $p = 0.22$; $F(1,14) = 0.67$; $p = 0.428$].

Eine lineare Regressionanalyse wurde berechnet, indem die CR – Inzidenzen und das Volumen der rechten cerebellären Hemisphäre (ipsilaterale Seite des unkonditionierten Stimulus) der Patientengruppe korreliert wurde. Es wurden weder für das kurze, noch für das lange Trace Intervall signifikanten Korrelationen gefunden (kurzes Traceintervall: $R = 0.055$, $p = 0.89$; langes Traceintervall: $R = 0.36$; $p = 0.37$).

Die Unterschiede für das kurze Trace-Intervall zeigen auch Abbildung 9 und 10, in der jeweils die Konditionierung von einem individuellen Kontrollprobanden bzw. Patienten dargestellt wird. Dargestellt sind die EMG Antworten für die 100 gepaarten CS-US Durchgänge, wobei der erste Durchgang ganz oben steht. Der Beginn des CS und US sind durch vertikale Linien gekennzeichnet. Eine EMG Antwort vor Beginn des Luftstoßes zeigt eine konditionierte Antwort an. Während der Kontrollproband im Verlauf zunehmende konditionierte Antworten zeigt, ist dies für den Patienten nicht der Fall.

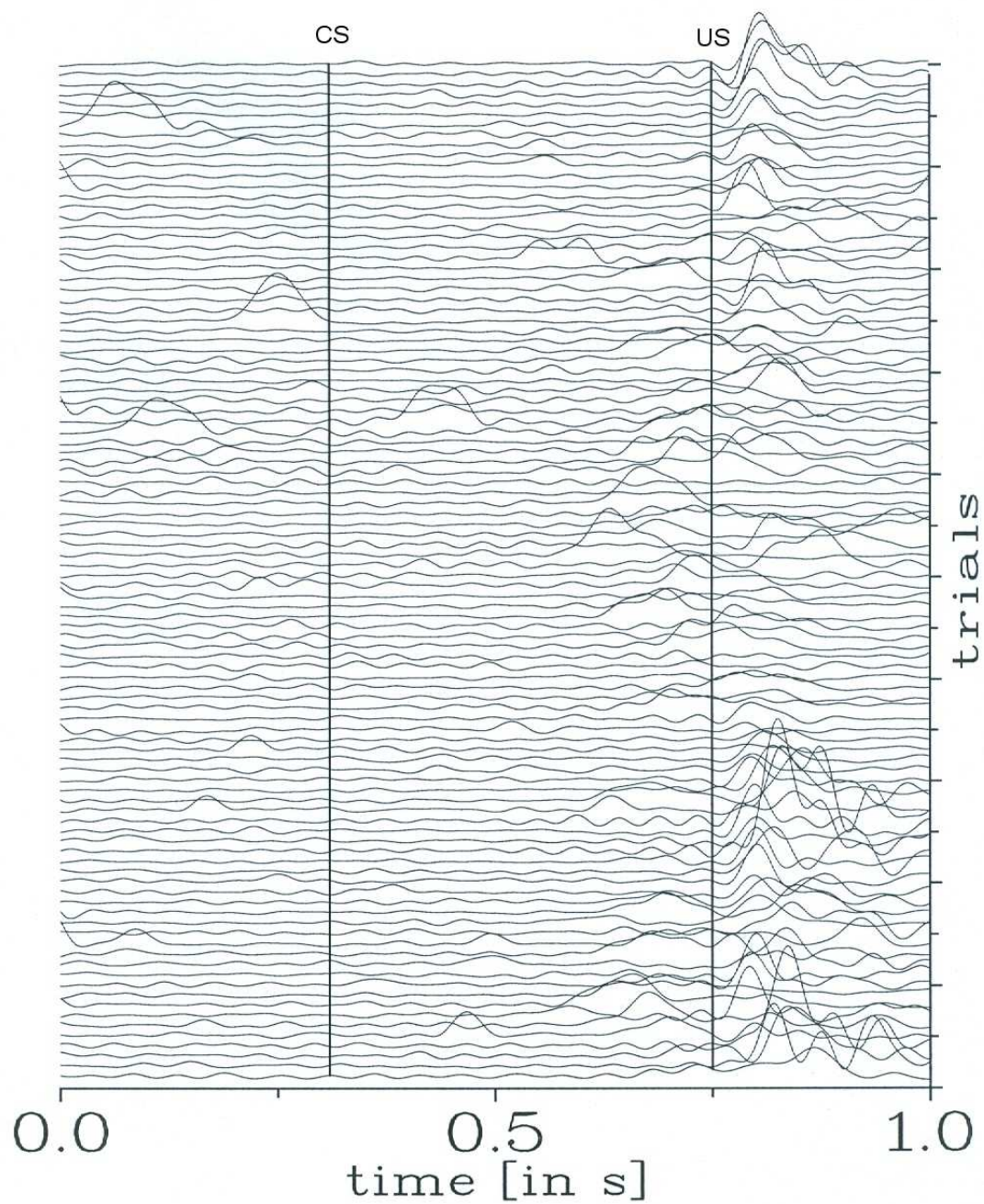


Abbildung 9 Beispiel einer EMG Aufzeichnung am rechten *M. orbicularis oculi* bei einem gesunden Probanden für das kurze Trace-Intervall. Die erste vertikale Linie bezeichnet den Beginn des konditionierten Stimulus (Ton) bei 310 ms, die zweite vertikale Linie den unkonditionierten Stimulus (Luftstoß) bei 750 ms. Trace-Intervall 400 ms, Interstimulusintervall 440 ms.

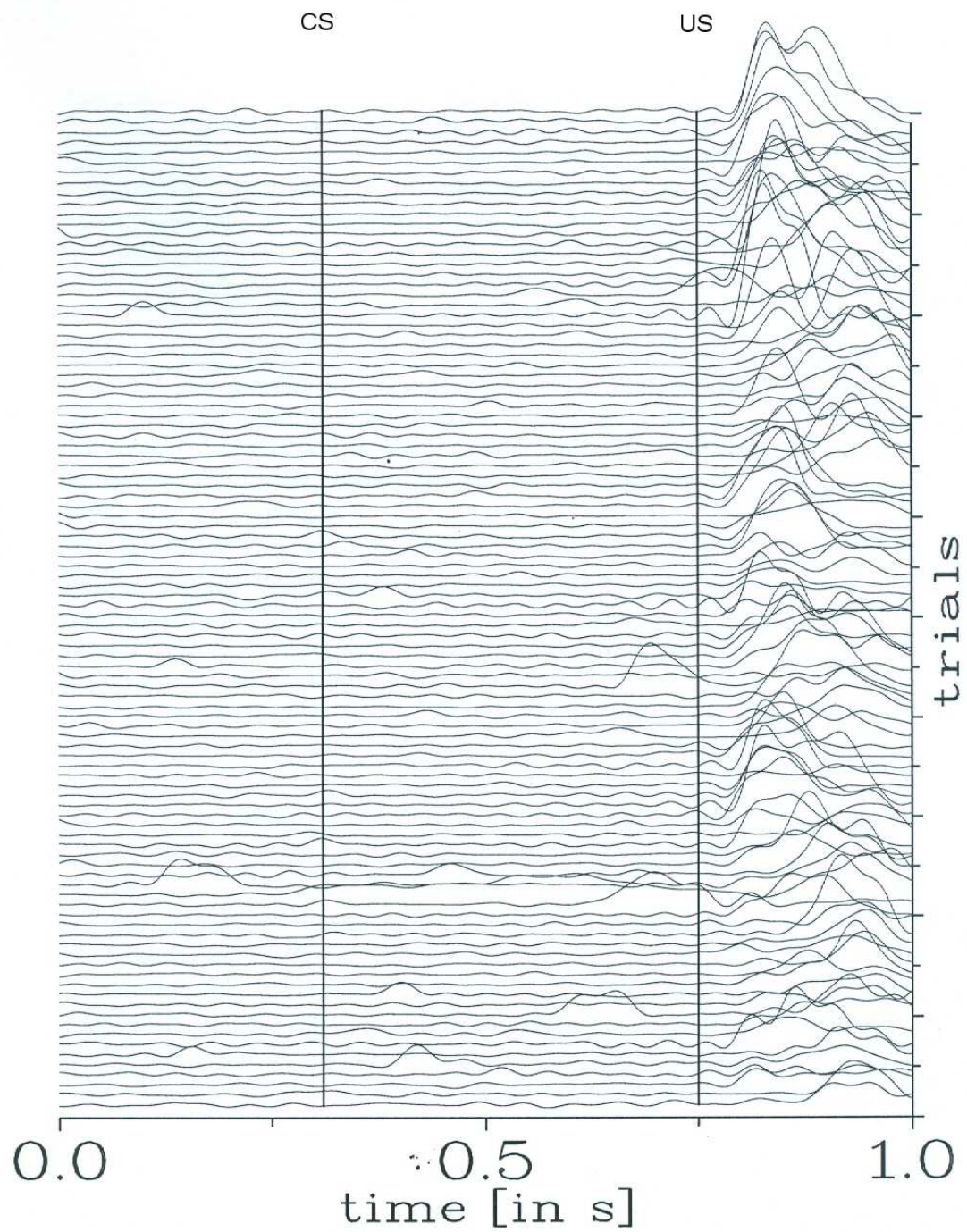


Abbildung 10 Beispiel einer EMG- Aufzeichnung am rechten *M. orbicularis oculi* bei einem Patienten für das kurze Trace-Intervall. Die erste vertikale Linie bezeichnet den Beginn des konditionierten Stimulus (Ton) bei 310 ms, die zweite vertikale Linie den unkonditionierten Stimulus (Luftstoß) bei 750 ms. Trace-Intervall 400 ms, Interstimulusintervall 440 ms.

3.3 Effekte von Awareness

Die Abbildung 11 zeigt die mittleren CR-Inzidenzen \pm SE verglichen jeweils zwischen dem kurzen und langen Trace-Intervall. Es wurde in Subgruppen unterteilt, ob die Kontrollen und Patienten die Kriterien der Awareness erfüllten oder die Stimulusabfolge nicht bewusst wahrgenommen hatten.

Da sich bei den Testungen im kurzen Trace-Intervall in der Kontrollgruppe bis auf zwei Probanden und im langen Trace-Intervall bis auf einen Probanden, alle Teilnehmer über die Versuchsbedingungen bewusst waren, d. h. Awareness zeigten, sind statistische Vergleiche in der Kontrollgruppe unsicher.

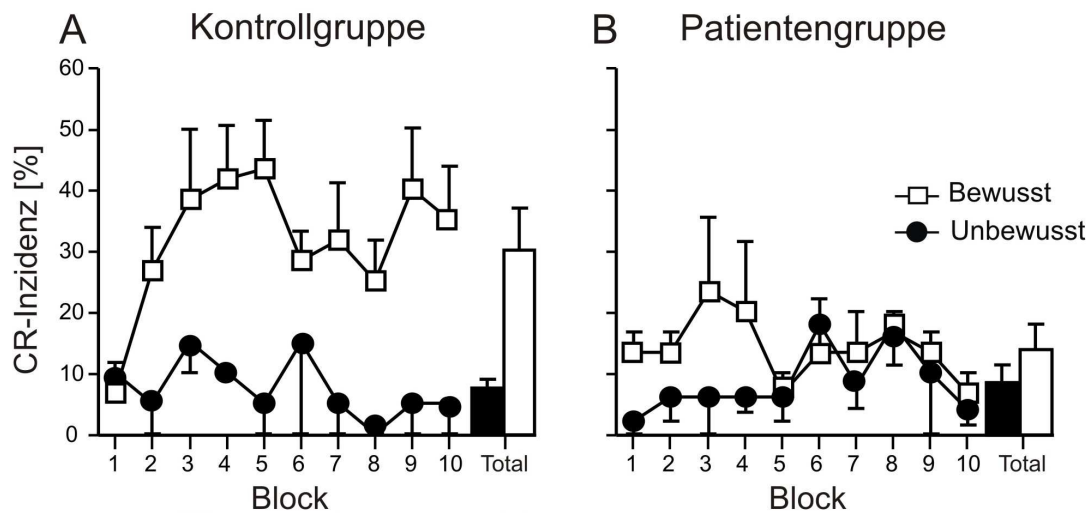
Beim kurzen Trace-Intervall zeigten die Kontrollen, denen die Untersuchung bewusst geworden ist, im Durchschnitt höhere CR Raten, als diejenigen, denen die Stimulusabfolge nicht bewusst wurden ($30.2 \pm 17.1\%$, $n=6$ vs. $7.5 \pm 2.1\%$, $n=2$), siehe Abbildung 11 A.

Bei den Patienten mit cerebellären Erkrankungen zeigten sich sowohl in dem Teil der Teilnehmer, denen die Stimulusabfolge bewusst war, als auch bei den Teilnehmern, denen die Abfolge nicht bewusst wurde, eine reduzierte mittlere Konditionierungsrate im kurzen Trace-Intervall ($14.0 \pm 7.2\%$, $n=3$ vs. $8.6 \pm 6.4\%$, $n=5$), siehe Abbildung 11 B. Die ANOVA zeigte keine signifikanten Effekte bei der Block, Block x Gruppe und Gruppe Berechnung ($p > 0.3$), abhängig davon, ob die Stimulusabfolge bewusst oder unbewusst wurde.

Im langen Trace-Intervall lagen die CR-Inzidenzen bei den Kontrollen, die sich über die Stimulusabfolge bewusst waren, innerhalb der gleichen Prozentrage verglichen mit dem kurzen Intervall ($29.0 \pm 21.2\%$, $n=7$). Verglichen mit diesen Werten lag die CR-Rate bei dem Probanden, der sich über die Aufgabe nicht bewusst war, niedriger (24.0%), siehe Abbildung 11 C.

Bei den Patienten, denen die Stimulusabfolge bewusst wurde, lag die Konditionierungsrate niedriger ($17.0 \pm 10.3\%$, $n=4$) als bei den Patienten, die sich über den Stimulusablauf nicht bewusst waren ($26.7 \pm 14.4\%$, $n=4$), siehe Abbildung 11 D.

Kurzes Trace-Intervall



Langes Trace-Intervall

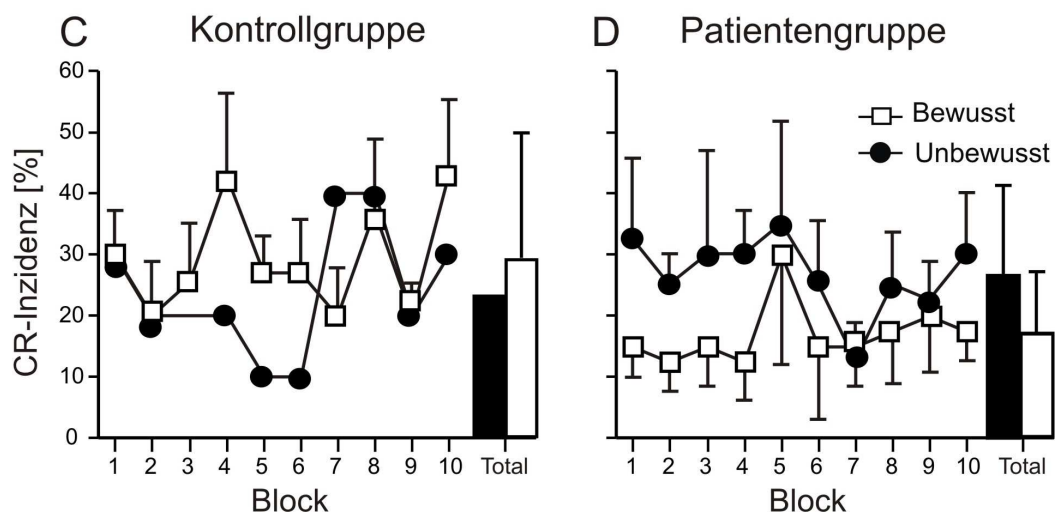


Abbildung 11 Darstellung des Effekts der Awareness bei der Kontrollgruppe im kurzen (11 A) und langen (11 C) Trace-Intervall, sowie der Patientengruppe im kurzen (11 B) und langen (11 D) Trace-Intervall, unterteilt in bewusste (weiße Säulen) und unbewusste (schwarze Säulen) Stimulusabfolge.

3.4 Auswertung der spontanen Blinkrate

Die Frequenz der spontanen Blinkrate wurde an jedem Testtag eine Minute lang zu Beginn und zum Ende der Untersuchung aufgezeichnet. Für die mittlere Anzahl an spontanen Blinks pro Minute (BpM) wurden im Vergleich der beiden Gruppen keine signifikanten Unterschiede gefunden. Es traten auch keine Unterschiede bezüglich des Beginns mit dem kurzen oder langen Trace-Intervalls auf (alle p -Werte > 0.2 ANOVA).

Die Patienten hatten im kurzen Intervall eine spontane Blinkrate von 19.6 ± 10.2 BpM vor und eine spontane Blinkrate von 21.7 ± 13.5 BpM nach der Testung. Im langen Intervall betrug die spontane Blinkrate vor der Testung 17.7 ± 9.8 BpM und nach der Testung 16.2 ± 11.0 BpM.

Die Kontrollen hatten im kurzen Intervall zu Beginn Werte von 24.6 ± 7.9 BpM und zum Ende 21.1 ± 13.4 BpM, im langen Intervall zu Beginn 17.0 ± 10.3 BpM und zum Ende 15.5 ± 8.3 BpM.

3.5 Auswertung der Alpha- Blinkrate

Die Alpha- Blinkrate zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten und Kontrollen (alle p Werte > 0.5). Die Patienten hatten Alpha- Blinkraten (d.h. Anzahl der Alpha-Blinks) von 3.38 ± 1.69 in den gepaarten und 0.63 ± 0.91 in den Extinktionsdurchgängen im kurzen Trace-Intervall.

Im langen Trace-Intervall lag die Rate bei 3.5 ± 1.92 in den gepaarten und bei 1.75 ± 1.28 in den Extinktionsdurchgängen.

Bei den Kontrollen lag die Alpha- Blinkrate bei 3.75 ± 2.76 in den gepaarten und 2.0 ± 2.56 in den Extinktionsdurchgängen im kurzen Trace-Intervall.

Im langen Intervall lag die Rate in den gepaarten Durchgängen bei 3.13 ± 2.41 und 1.0 ± 0.92 in den Extinktionsdurchgängen.

3.6 Timing der konditionierten und unkonditionierten Blinkreflexantworten

3.6.1 Unkonditionierte Antworten (UR)

Die Abbildung 12 zeigt den durchschnittlichen Beginn (Onset) und die Latenz bis zur höchsten Amplitude (peaktime) der unkonditionierten Antworten im kurzen und langen Trace- Intervall, wobei weiße Säulen das kurze und schwarze Säulen das lange Intervall repräsentieren.

Die Varianzanalyse für wiederholte Messungen mit UR-Onset und UR-Peaktime als abhängige Variable, das Traceintervall als Innersubjektfaktor und die Gruppe (Kontrollen vs. cerebelläre Patienten) als Zwischensubjektfaktor, ergaben keine signifikanten Effekte (Trace Intervall, Gruppe, Gruppe x Trace Intervall: alle p -Werte >0.2) im Vergleich zwischen den Patienten und der Kontrollgruppe.

Im kurzen Trace-Intervall lag der UR-Onset bei 73.5 ± 22.7 ms nach Beginn des US bei den cerebellären Patienten ($n=8$) und bei 71.8 ± 19.7 ms bei den Kontrollen ($n=8$). Der UR-Peaktime lag in der Patientengruppe bei 109.3 ± 38.3 ms und bei 106.2 ± 29.3 ms in der Kontrollgruppe.

Im langen Trace-Intervall lag der UR-Beginn bei 65.8 ± 12.8 ms bei den Patienten ($n=7$) und bei 69.4 ± 20.8 ms bei den Kontrollen ($n=8$). Die UR-Peaktime lag bei 102.8 ± 24.6 ms in der Gruppe der Patienten und bei 104.5 ± 29.1 ms in der Kontrollgruppe.

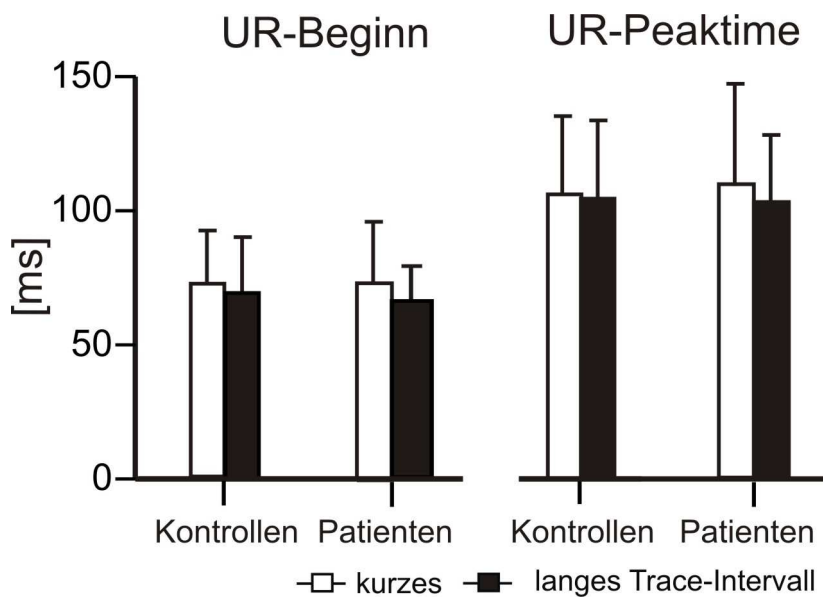


Abbildung 12 Timing der unconditionierten Blinkreflexantworten die dem Luftstoß (US) folgen, unterteilt in das kurze (weiße Säulen) und lange Fenster (schwarze Säulen) jeweils für die Patienten und die Kontrollen. Die Abbildung zeigt die Mittelwerte \pm SD für den Beginn der unconditionierten Antworten (UR) und die Zeit bis zum größten Ausschlag der unconditionierten Antwort in ms nach Beginn des Luftstoß (US).

3.6.2. Konditionierte Antworten (CR)

Auch die Analyse der Timingparameter der CRs in den gepaarten konditionierten Antworten zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten (n=6) und den Kontrollen (n=8).

Die Abbildung 13 zeigt den Onset und Peaktime der konditionierten Antworten im kurzen und langen Trace-Intervall, wobei die weißen Säulen das kurze Fenster repräsentieren und die schwarzen Säulen das lange Fenster.

Es zeigte sich, dass im kurzen Trace Intervall der Beginn der CR im Mittel bei -125.1 ± 40.1 ms vor Beginn des US lag, bei den cerebellären Patienten und bei den Kontrollen bei -120.5 ± 21.5 ms. Die CR-Peaktime lag bei -93.2 ± 33.8 ms in der Gruppe der Patienten und bei -95.9 ± 24.9 ms in der Gruppe der Kontrollen.

Im langen Trace-Intervall lag der CR-Onset bei -457.0 ± 174.9 ms bei den Patienten und bei -485.3 ± 87.5 ms bei den Kontrollen. Die CR-Peaktime lag bei -424.1 ± 167.0 ms in der Gruppe der Patienten und bei -411.1 ± 95.2 ms in der Kontrollgruppe.

Eine ANOVA mit CR-Onset und CR-Peaktime als abhängige Variable, das Traceintervall als Innersubjektfaktor und die Gruppe (Kontrollen versus cerebelläre Patienten) als Zwischensubjektfaktor, ergab keine signifikanten Werte (Trace Intervall, Gruppe, Gruppe X Trace Intervall: alle p -Werte > 0.1).

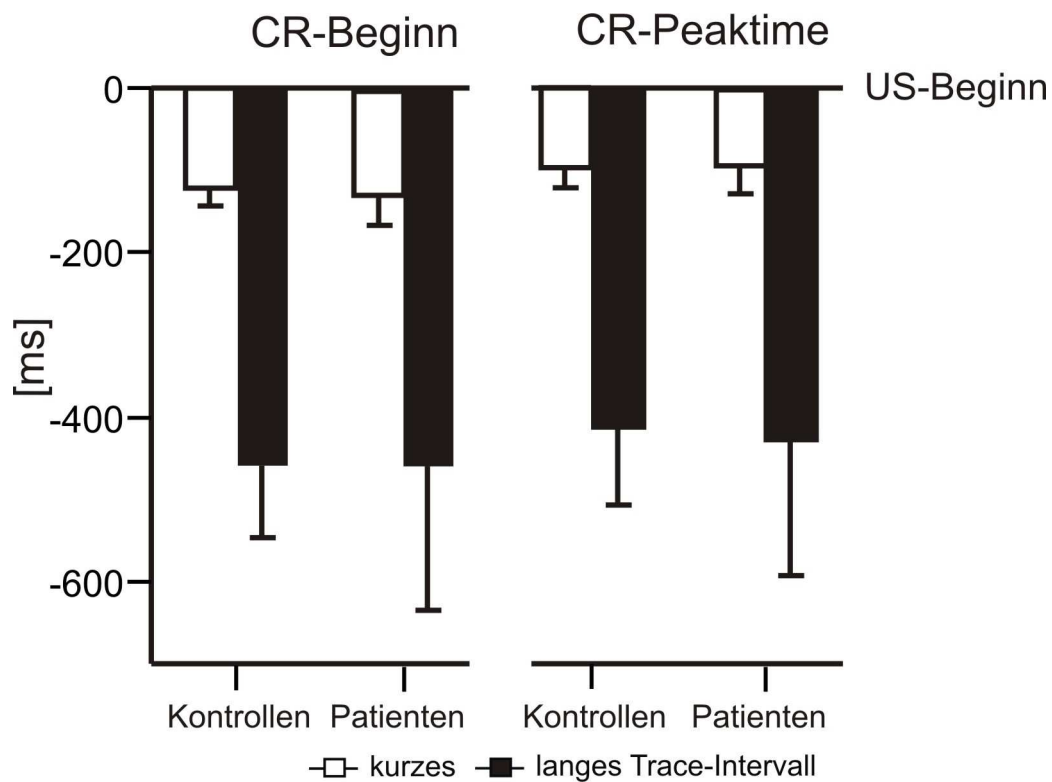


Abbildung 13 Timing der konditionierten Blinkreflexantworten in den gepaarten Durchgänge (Ton und Luftstoß), unterteilt in das kurze (weiße Säulen) und lange Fenster (schwarze Säulen) jeweils für die Patienten und die Kontrollen. Die Abbildung zeigt die Mittelwerte \pm SD für den Beginn der konditionierten Antworten (CR) und die Zeit bis zu größten Ausschlag der konditionierten Antworten in ms vor Beginn des Luftstoßes (Zeitpunkt des Luftstoßes als 0 ms).

3.7 Auswertung der Extinktion

Die Bedingung für den Einschluss in die Auswertung der Extinktionsdaten war, dass mindestens eine konditionierte Antwort im ersten Extinktionsblock auftrat. Dies erfüllten im kurzen Intervall sechs und im langen Intervall sieben der Patienten. Von den Kontrollen erfüllten vier im kurzen und fünf Probanden im langen Trace-Intervall diese Bedingung.

Sowohl in der Gruppe der Patienten, als auch in der Kontrollgruppe zeigte sich, dass die Anzahl der konditionierten Antworten im Vergleich vom letzten Block der gepaarten Durchgänge hin zum letzten Block der Extinktionsdurchgänge im kurzen und langen Fenster abnahm.

Im kurzen Trace-Intervall lag in Block 10 der gepaarten Durchgänge der Mittelwert der CR Inzidenzen bei den Patienten bei $13.3 \pm 5.8\%$ und bei den Kontrollen bei $47.5 \pm 9,6 \%$.

Im Block 3 der Extinktionsdurchgänge lag der Mittelwert der CR Inzidenzen bei den Patienten bei $0.0 \pm 0.0\%$ und bei den Kontrollen bei $20.0 \pm 14.1 \%$.

Im langen Trace Intervall lag im Block 10 der gepaarten Durchgänge der Mittelwert der CR Inzidenzen bei den Patienten bei $30.0 \pm 12.6\%$ und bei den Kontrollen bei $54.0 \pm 32,1\%$.

Im Block 3 der Extinktionsdurchgänge lag der Mittelwert der CR Inzidenzen bei den Patienten bei $11.7 \pm 7.5\%$ und bei den Kontrollen bei $40.0 \pm 29.1\%$.
(siehe Abbildung 14).

Die absolute Abnahme an konditionierten Antworten war in der kurzen Trace-Intervallbedingung in der Kontrollgruppe deutlicher als in der Patientengruppe. Dieser Unterschied war aber hauptsächlich auf die hohe Anzahl der konditionierten Antworten im letzten Block der gepaarten Durchgänge zurückzuführen. Tatsächlich zeigten beide Gruppen eine ähnliche Rate an konditionierten Antworten im letzten Extinktionsblock, die nah an der spontanen Blinkrate lag.

Die ANOVA zeigt, dass signifikante Effekte bei der Untersuchung der Extinktion vorliegen [kurzes Trace-Intervall: $F(1,8) = 13.9$; $p = 0.006$; im langen Trace-Intervall $F(1,12) = 10.9$, $p = 0.006$]. Der Gruppeneffekt wurde signifikant [$F(1,8) = 174$, $p < 0.001$] und der Extinktion X Gruppe Effekt erreichte signifikante Werte im kurzen Trace-Intervall [$F(1,8) = 5.1$; $p = 0.052$]. Gruppe und Extinktion X Gruppe Effekt wurden im langen Trace-Intervall nicht signifikant [$F(1,12) = 3.1$; $p = 0.1$; $F(1,12) = 0.0$, $p = 1.0$]

Im kurzen Trace-Intervall zeigte sich, dass sowohl die Patienten als auch die Kontrollen im Verlauf der drei Extinktionsblöcke eine verminderte Konditionierungsrate aufwiesen. Der Extinktionseffekt und der Extinktion X Gruppe Effekt waren nicht signifikant ($p > 0.09$). Der Gruppeneffekt wurde signifikant [$F(2,8) = 33.4$; $p < 0.001$]. Im langen Trace-Intervall war diese Verminderung nur für die Gruppe der Patienten der Fall, die Gruppe der Kontrollen zeigte im dritten Block eine höhere CR-Rate als im ersten Block (Abbildung 14 D). Der Extinktionseffekt, der Extinktion X Gruppe Effekt und der Gruppeneffekt wurden nicht signifikant ($p > 0.1$).

Der Extinktionseffekt und der Extinktions X Gruppe Effekt waren auch hier nicht signifikant ($p=0.15$ und $p=0.1$).

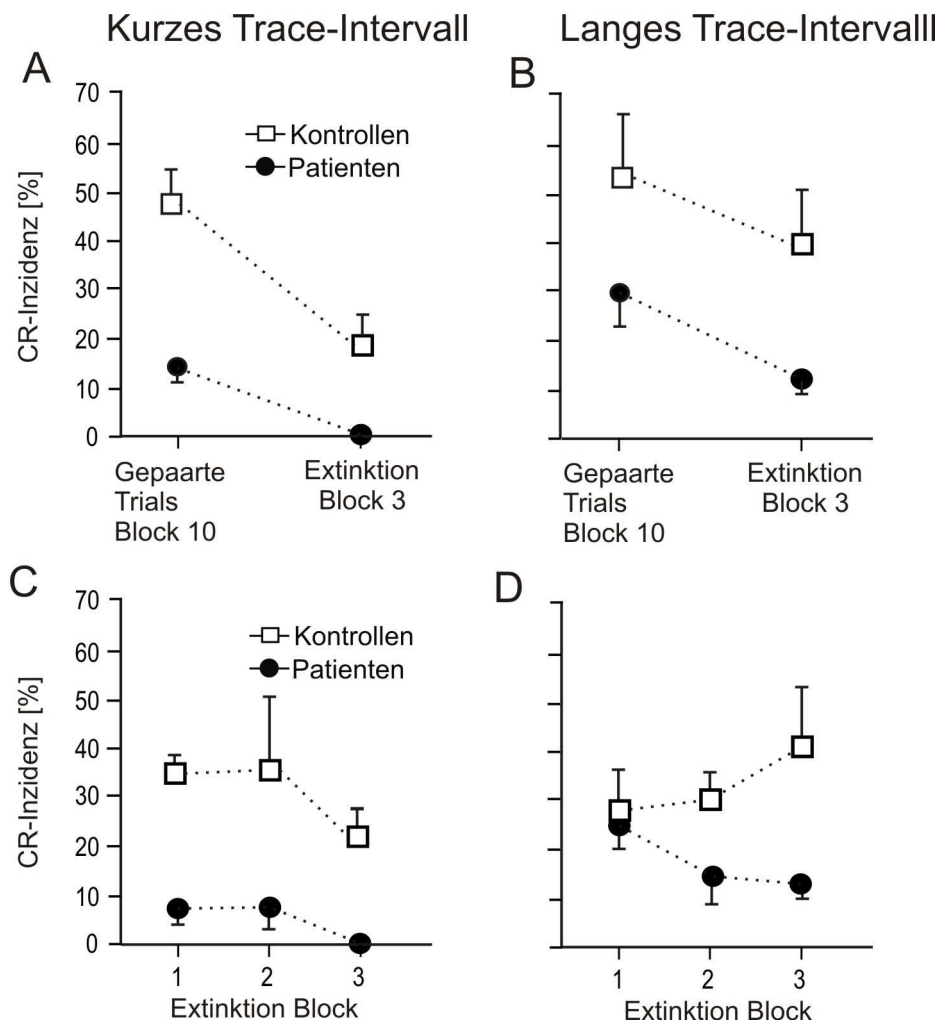


Abbildung 14 Extinktion der konditionierten Antworten: Die mittlere Rate (in %) an CR-Inzidenzen \pm SE im letzten Block (Block 10) der gepaarten Durchgänge verglichen mit dem letzten Extinktionsblock (Block 3) jeweils im kurzen (A) und langen (B) Trace-Intervall. Die mittlere Rate (in %) an CR-Inzidenzen \pm SE über die drei Extinktionsblöcke verglichen im kurzen (C) und langen (D) Trace-Intervall. Es wurden nur Teilnehmer in die Daten einbezogen, die mindestens 15 konditionierte Antworten in den gepaarten Durchgängen boten und eine konditionierte Antwort im ersten Extinktionsblock.

4 Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, bei Patienten mit gestörter Funktion der Kleinhirnrinde Untersuchungen mit der Trace-Blinkreflexkonditionierung durchzuführen, um die Rolle des cerebellären Kortex bei dieser Art der Konditionierung zu untersuchen. Dazu wurden zwei Trace-Intervalle mit verschiedenen Längen verwendet, ein kurzes und ein langes Intervall.

Zusammenfassend lassen sich zwei Hauptergebnisse beschreiben:

Zunächst konnte gezeigt werden, dass die Patienten bei der Verwendung des kurzen Trace-Intervalls eine signifikant niedrigere Lernrate konditionierter Antworten aufwiesen als die Kontrollgruppe.

Während die Probanden aus der Kontrollgruppe mit Awareness für die charakteristische Abfolge der Reize im kurzen Trace- Intervall eine höhere Rate konditionierter Antworten erreichten, lag die Konditionierungsrate bei den Patienten, welche die Kriterien der Awareness erfüllten, sogar niedriger.

Hingegen konnte im langen Trace-Intervall zwischen den beiden Gruppen kein Unterschied in der CR-Inzidenz beobachtet werden.

4.1 Kurzes Trace-Intervall

Das beeinträchtigte Erlernen von konditionierten Antworten bei Patienten mit *degenerativen* Erkrankungen der Kleinhirnrinde zeigt, dass der cerebelläre Kortex bei Menschen nicht nur bei der Delay-Konditionierung, sondern auch bei komplexeren Konditionierungsparadigmata wie der Trace- Konditionierung eine Rolle spielt, solange das Trace- Intervall zwischen den beiden Stimuli relativ kurz gewählt wird.

Diese Ergebnisse erweitern die Befunde aus vorherigen Studien unseres Labors, bei denen Patienten mit *fokalen* Läsionen der cerebellären Hemisphären mit dem gleichen kurzen Trace-Intervall untersucht worden waren. Bei Probanden, deren Läsionen Teile des Nucleus interpositus mit einbezogen, zeigte sich, dass die Akquisition von konditionierten Antworten signifikant beeinträchtigt war (Gerwig et al. 2006).

Bei Patienten mit fokalen Läsionen, die nur kortikal betroffen waren, zeigte sich dagegen eine ungestörte Lernrate. Eine mögliche Erklärung für diesen Unterschied zu den aktuellen Befunden könnte darin liegen, dass die kortikalen Läsionen nicht weit genug ausgedehnt waren, um den Erwerb der Trace-Konditionierung zu beeinträchtigen. Ebenso ist es möglich, dass die relevanten Funktionen durch intakte angrenzende Areale des cerebellären Kortex kompensiert werden konnten.

Zudem hatten in der Studie bei fokalen Läsionen einige der Patienten mit rein kortikalen Läsionen, wie auch ein Teil der Kontrollen, schon an einem vorherigen Experiment zur Delay-Konditionierung teilgenommen. Diese zeigten, wenn auch nicht signifikant, höhere Lernraten für die Konditionierung als naive Teilnehmer.

Daher scheint es möglich, dass diese Konditionierungsrate beibehalten werden konnte, sogenannte Retention, obwohl ein anderer Ton als konditionierter Stimulus benutzt worden war.

In der früheren Trace-Arbeit wurde nur ein Patient, der vorher noch nicht an einer Konditionierungsstudie teilgenommen hatte und dessen Läsion auf den cerebellären Kortex begrenzt war, zuerst auf der Seite der Läsion getestet. Beim Vergleich der CR Inzidenzen auf der erkrankten und der gesunden Seite ließen sich nur geringe Differenzen feststellen und es ließen sich keine sicheren Rückschlüsse bezüglich eines Effekts der reinen kortikalen Läsion auf die Trace- Konditionierung ziehen.

Die vorliegenden Ergebnisse stehen in gewissen Widerspruch zu einer Magnetencephalographiestudie (MEG), in der Kirsch et al. (2003) zeigten, dass bei gesunden Probanden eine cerebelläre Aktivierung zwar in einem kurzen Delay-Paradigma (750 ms) beobachtet werden konnte, aber nicht in einem vergleichbar kurzem Trace- Paradigma von 650 ms. Für das Trace- Paradigma wurde jedoch eine hippocampale Aktivierung beobachtet.

Abgesehen von einer Fallstudie von Fortier et al. (2000) gibt es bisher noch keine Gruppenuntersuchungen, bei denen Patienten mit kortikaler cerebellärer Degeneration mit der Trace-Konditionierung getestet worden sind.

In der Studie von Fortier wurde eine Patientin untersucht, bei der in der MRT-Aufnahme eine ausgedehnte kortikale cerebelläre Atrophie beschrieben wurde, welche die cerebellären Kerne nicht mit einschloss.

Die Patientin und eine Kontrollgruppe wurden in vier verschiedenen Experimenten getestet, einem Delay- und einem Trace-Paradigma mit 500 ms Trace- Intervall, sowie zwei Paradigmen mit differentieller Konditionierung. In diesen wurde zuerst eine Konditionierung getestet, bei der zwei unterschiedliche konditionierte Stimuli zwei unterschiedlich lange Interstimulusintervalle anzeigten. Im zweiten Paradigma wurde ein Delay-Paradigma genutzt, bei dem zum einen ein konditionierter Stimulus von einem unkonditionierten Stimulus gefolgt wurde (CS+), sowie ein anderer konditionierter Stimulus, der ohne anschließenden unkonditionierten Stimulus angeboten wurde (CS-).

Die Patientin wurde zunächst in der Delay-Konditionierung getestet und nach etwa drei Wochen in der Trace-Konditionierung. Nach weiteren acht Monaten fand dann zunächst die Testung mit der ersten Bedingung der differentiellen Konditionierung, zwei Wochen später die zweite Bedingung statt. Die Patientin zeigte sowohl in der Delay- als auch in der Trace-Konditionierung keine Defizite bei der Akquisition von konditionierten Antworten. Im Vergleich dazu fand sich eine gestörte Konditionierungsleistung in der differentiellen Konditionierung.

Da zunächst die Delay-Konditionierung verwendet wurde, könnte dies dazu geführt haben, dass im Trace-Paradigma die konditionierten Antworten nicht nur schneller, sondern auch in größerer Anzahl erworben werden konnten. Fortier et al. schlossen aus ihren Ergebnissen, dass nur Läsionen der cerebellären Kerne, aber nicht der cerebellären Rinde zu einer gestörten Delay- und Trace-Blinkreflexkonditionierung führen.

In Untersuchungen, die mehrere Patienten einschlossen, konnten sowohl unsere Arbeitsgruppe, als auch andere Gruppen zeigen, dass der Erwerb von konditionierten Antworten im Delay-Paradigma bei Patienten mit kortikaler cerebellärer Degeneration signifikant beeinträchtigt war (Timmann et al. 2005; Topka et al. 1993). Eine Erklärung für die Befunde bei Fortier könnte sein, dass die kritischen kortikalen Areale bei dieser Patientin nicht komplett betroffen waren.

Es existieren nur wenige Studien, in denen Tiere mit cerebellären kortikalen Störungen mit der Trace-Blinkreflexkonditionierung untersucht worden sind. Die Ergebnisse dieser Studie sind uneinheitlich.

In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der vorliegenden Studie zeigte eine Arbeit von Woodruff-Pak et al. (1985), die an Kaninchen mit reinen kortikalen Läsionen durchgeführt worden war, dass die Folge dieser Läsionen ein gestörter Erwerb von konditionierten Antworten war.

Ergebnisse aus anderen Studien am Tiermodell zeigen dagegen eine erhaltene Fähigkeit zum Erlernen der konditionierten Antworten in der Trace-Blinkreflexkonditionierung.

In einer Studie von Woodruff-Pak et al. (2006) wurden Mäuse mit einem Defekt im Natriumkanalprotein $Na_v1.6$ in den Purkinjezellen u.a. mit der Trace- und der Delay-Blinkreflexkonditionierung getestet. Die Läsion ist beschränkt auf die $Scn8a$ Natriumkanäle in den Purkinjezellen des Kortex und hat keinen Effekt auf weitere cerebelläre oder nicht cerebelläre Neurone.

Der Defekt am Natriumkanalprotein hatte letztendlich zur Folge, dass die Purkinjezellen nur noch mit einer halbierten Feuerrate die ankommenden Signale weiterschicken können und damit den Erwerb der Delay-Blinkreflexkonditionierung beeinträchtigen, da die Purkinjezellen die einzigen Zellen der Kleinhirnrinde sind, die Afferenzen zu den tiefen cerebellären Kernen senden.

Die getesteten Knock-out Mäuse zeigten aber im Vergleich zu den Wildtypen keinerlei Unterschiede beim Erwerb der Trace-Blinkreflexkonditionierung.

Die Arbeitsgruppe von Kishimoto et al. (2001) untersuchte die Blinkreflexkonditionierung an Mäusen mit einer Mutation am Glutamatrezeptor GluR 2. Dieser Glutamatrezeptor wird selektiv nur an den Dendriten der Purkinjezellen exprimiert. Auch bei diesem Experiment erreichten die Mäuse unabhängig von der Mutation ähnliche Konditionierungsraten in der Trace-Blinkreflexkonditionierung.

Trotz dieser Arbeiten muss berücksichtigt werden, dass Experimente mit Knock-out Mäusen und Läsionsstudien bei Menschen und Tieren nicht direkt vergleichbar sind, da die Möglichkeit besteht, dass über nicht betroffene Bahnen in den Knock-out Mäusen der Erwerb der Trace-Blinkreflexkonditionierung erhalten bleibt.

Es besteht die Möglichkeit, dass die Trace-Blinkreflexkonditionierung, trotz der Unterschiede zum Delay-Paradigma, die selben neuronalen Strukturen des nicht deklarativen Gedächtnisses innerhalb des Cerebellums nutzt, um die konditionierte Antwort zu generieren (Clark und Squire 1998).

Möglich wäre, dass die Analyse der durch das Trace-Intervall getrennten Stimuli durch den Hippocampus und neocorticale Areale erfolgt und daraufhin ins Kleinhirn geschickt wird.

Es wird diskutiert, dass das Cerebellum eine Rolle bei der einfachen Assoziation zwischen dem konditionierten und unkonditionierten Stimulus spielt, indem es einen gemeinsamen Pfad auch für komplexere Konditionierungsparadigmen anbietet, die ein Modell für das deklarative Gedächtnis darstellen (Green und Woodruff-Pak 2000).

4.2 Langes Trace- Intervall

Entgegen der Annahme, dass das Kleinhirn eine Art gemeinsame Endstrecke für einfache und komplexe Konditionierungsvorgänge ist, war bei den Patienten dieser Studie die Trace-Blinkreflexkonditionierung im langen Zeitfenster nicht beeinträchtigt. Durch die kleine Gruppenanzahl von acht Patienten besteht allerdings die Möglichkeit, dass eventuelle Effekte innerhalb der vorhandenen Variabilität in der kleinen Gruppe nicht erfasst werden konnten. Andererseits

könnte für das lange Trace-Intervall der Hippocampus eine entscheidende Funktion haben.

Tierexperimentelle Arbeiten legen nahe, dass der Hippocampus eine wichtige Rolle bei der Trace-Blinkreflexkonditionierung spielt.

Bei Kaninchen mit hippocampalen Läsionen war die Akquisition von konditionierten Antworten bei einem Trace-Intervall von 500 ms Länge reduziert (Solomon et al. 1986, Moyer et al. 1990).

Bei Patienten mit Amnesie, die Läsionen am Hippocampus hatten, war die Trace-Blinkreflexkonditionierung bei einem Trace-Intervall von 500 ms Länge wenig reduziert, aber bei einer Dauer von 1000 ms signifikant beeinträchtigt (McGlinchey-Berroth et al. 1997, Clark und Squire 1998).

Der Hippocampus scheint also nicht notwendigerweise erforderlich zu sein, wenn die beiden Stimuli in einem kurzen Trace-Intervall präsentiert werden. (Green und Woodruff-Pak 2000). Dagegen scheinen cerebelläre Läsionen einen Effekt zu zeigen, wenn ein kurzes Trace-Intervall benutzt wird.

4.3 Awareness

In den letzten Jahren fanden Clark und sein Mitarbeiter in mehreren Studien heraus, dass eine erfolgreiche Akquisition von konditionierten Antworten bei der Trace-Blinkreflexkonditionierung im langen Trace-Intervall davon abhängt, ob der Proband die Zusammenhänge der Stimuli bewusst erkennt, d.h. „Awareness“ erlangt.

Bei der Anwendung des langen Trace-Intervalls in der vorliegenden Arbeit gab es keine signifikanten Unterschiede im Auftreten der konditionierten Antworten zwischen den Patienten, die Awareness erreichten und denen, welche die Zusammenhänge zwischen den Stimuli nicht bewusst wahrnahmen. Es wäre zu erwarten gewesen, dass diejenigen Patienten, die sich über die Abfolge der Stimuli bewusst waren, höherer Konditionierungsraten zeigten. Aber in der Auswertung zeigte sich, dass diese Patienten sogar niedrigere Konditionierungsraten aufwiesen. Um diese Ergebnisse zu bestätigen, wird es nötig sein, ein größeres Patientenkollektiv zu untersuchen.

In der Kontrollgruppe konnten keine Rückschlüsse auf den Effekt von Awareness hinsichtlich der Versuchsbedingungen gezogen werden, da bis auf einen Probanden, alle anderen die Beziehung der Stimuli zueinander erkannt hatten.

Im kurzen Trace-Intervall lag die Rate der konditionierten Antworten bei den gesunden Kontrollen mit Awareness höher, als bei den zwei Kontrollprobanden, bei denen das nicht der Fall war. Bei den Patienten machte Awareness keinen Unterschied, die Rate der konditionierten Antworten blieb gleich niedrig.

Möglicherweise hat Awareness weniger Bedeutung bei der Trace-Blinkreflexkonditionierung, wenn das Trace-Intervall kurz gewählt ist. Clark und Squire (1998) fanden heraus, dass Probanden ohne Awareness Konditionierungsraten zeigen, die vergleichbar mit denen der Delay-Blinkreflexkonditionierung sind.

Im Vergleich zwischen den beiden Intervallen, lag die Anzahl der gesunden Probanden mit Awareness im langen Intervall höher als im kurzen Intervall, wobei die Differenz jedoch gering war. Die Anzahl der Personen mit Awareness unterschied sich lediglich um eine Person. Zu beachten ist dabei, dass die Beurteilung der Awareness dadurch begrenzt sein kann, dass die Befragung nach der ersten Testung die Antwort nach dem zweiten Testtag beeinflusst haben könnte. Jedoch waren sowohl im kurzen, als auch im langen Trace-Intervall die gleichen vier Patienten „unaware“. Ein fünfter Proband war im langen Trace-Intervall am ersten Testtag, „aware“, konnte dann aber am zweiten Testtag die Abläufe nicht richtig zuordnen.

4.4 Timing

Ein zentraler Aspekt des Erwerbs von konditionierten Antworten liegt im exakten Timing der konditionierten Antworten.

In Tierstudien, in denen Tiere mit cerebellären Läsionen im Delay-Paradigma getestet wurden, zeigte sich, dass ein korrektes Timing der konditionierten Antworten gestört war (Perrett et al. 1993, Koekkoek et al. 2003, Aksenov et al. 2004). Auch bei Patienten mit cerebellären Erkrankungen konnten Defizite im

Timing beobachtet werden (Topka et al. 1993, Gerwig et al. 2005). Dort treten die CR's zu früh auf.

In der vorliegenden Studie waren weder der Beginn, noch der Zeitpunkt der Peakamplitude im kurzen und im langen Trace-Intervall gestört.

Übereinstimmend damit wurde in experimentellen Trace-Blinkreflex Studien mit Tieren, deren cerebelläre Funktionen gestört waren, ein ungestörtes Timing der konditionierten Antworten gefunden. Dies lässt vermuten, dass bei dieser Form der Blinkreflexkonditionierung das Cerebellum eine eher untergeordnete Bedeutung hat (Kishimoto et al. 2001, Woodruff-Pak et al. 2006).

Das Timing der Trace-Blinkreflexkonditionierung scheint hauptsächlich durch den Hippocampus moduliert zu werden.

Bei Kaninchen konnte gezeigt werden, dass nach einer hippocampalen Läsion das Timing bei einem Trace-Intervall von 500ms gestört war (Solomon et al. 1986, Port et al 1986, James et al. 1987). Bei einem kürzeren Trace-Intervall war das Timing allerdings nicht beeinträchtigt (Moyer et al. 1990). Bei Patienten mit bilateralen Temporallappenschädigungen beobachteten McGlinchey-Berroth et al. (1997) Defizite beim CR-Timing, was eine kritische Rolle des Hippocampus beim Timing von Traceantworten vermuten lässt.

Da in der jetzigen Studie die Rate der konditionierten Antworten signifikant reduziert war und die Timinganalyse auf wenigen konditionierten Antworten basierte und zusätzlich auch die Anzahl der Probanden vergleichsweise klein war, ist es möglich, dass geringe Timingdefizite nicht beobachtet werden konnten. Deswegen wäre es sinnvoll, das Timing der konditionierten Antworten an einer größeren Fallzahl zu testen.

4.5 Extinktion

Zusätzlich zu dem gestörten Erwerb und Timing bei der Delay-Blinkreflexkonditionierung, wurde in einer Studie unserer Arbeitsgruppe eine gestörte Extinktion der konditionierten Antworten bei Patienten mit cerebellären Läsionen beobachtet (Gerwig et al. 2006).

In der aktuellen Trace-Blinkreflex Studie waren die Patienten in der Lage, die konditionierten Antworten sowohl im kurzen als auch im langen Trace-Intervall „zu löschen“ (Extinktion). Während im langen Trace-Intervall kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe beobachtet werden konnte, scheint im kurzen Intervall der Umfang die Reduktion der konditionierten Antworten in der Gruppe der Patienten geringer zu sein. Angesichts der deutlich geringeren Anzahl an konditionierten Antworten im letzten Block der gepaarten Durchgänge und keiner konditionierten Antwort im dritten Extinktionsblock bei den Patienten, beruht dieser Unterschied wahrscheinlich auf Bodeneffekten.

Tierstudien bieten Hinweise dafür, dass die Extinktion der konditionierten Antworten ein aktiver Prozess unabhängig von deren Erwerb ist (Robledo et al. 2004). Dieser Prozess scheint sowohl das Kleinhirn als auch den Hippocampus zu involvieren.

Beim Kaninchen modifiziert der cerebelläre Kortex die Extinktion, insbesondere scheint bei der Delay Blinkreflexkonditionierung der Lobus anterior eine wichtige Rolle zu spielen (Perrett und Mauk 1995). Aber es ist möglich, dass zwischen der Delay- und der Trace-Blinkreflexkonditionierung Unterschiede bestehen. Daher wäre es auch hier notwendig, die gefundenen Ergebnisse der Extinktion in der Trace-Blinkreflexkonditionierung in einer größeren Patientengruppe mit cerebellären Läsionen weiter zu untersuchen.

5 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Arbeit zur Trace-Blinkreflexkonditionierung bei Patienten mit degenerativen Kleinhirnerkrankungen legt nahe, dass der cerebelläre Kortex beim Menschen eine Rolle in dieser Art der Blinkreflexkonditionierung spielt, vorausgesetzt, dass das Trace-Intervall relativ kurz gewählt wird.

Dies unterstützt die Annahme, dass für die Trace-Blinkreflexkonditionierung, einem Modell für deklaratives, explizites Lernen, nicht nur der Nucleus interpositus im menschlichen Cerebellum eine Rolle spielt, sondern auch die Kleinhirnrinde einen wichtigen Anteil hat.

6 Zusammenfassung

Die klassische Blinkreflexkonditionierung ist ein erprobtes Modell um assoziatives Lernen sowohl beim Menschen, als auch bei Tieren zu untersuchen.

Die hier verwendete Trace-Blinkreflexkonditionierung, bei welcher der konditionierte (CS) und der unkonditionierte (US) Stimulus durch ein Stimulus freies Intervall getrennt werden (das Trace-Intervall), gilt als abhängig vom Hippocampus. Man schreibt ihr eine Rolle als Modell für deklaratives (explizites) Lernen zu. Dabei scheinen auch Läsionen des Kleinhirnkerns Nucleus interpositus zu einer gestörten Trace- Blinkreflexkonditionierung zu führen. Das Ziel dieser Dissertation war, die Rolle des cerebellären Kortex für diese Form der Konditionierung zu untersuchen.

Dazu wurden acht Probanden mit degenerativen Kleinhirnerkrankungen, die primär den cerebellären Kortex betreffen, und acht gesunde Kontrollprobanden an zwei Untersuchungstagen getestet. Die Untersuchungen fanden im Abstand von sieben Tagen statt, wobei zwei unterschiedlich lange Trace-Intervalle (400 ms und 1000 ms) verwendet wurden. Es wurden zunächst zehn CS und zehn US allein dargeboten, dann 100 gepaarte CS-US-Durchgänge und zuletzt 30 CS zur Extinktion, jeweils als 10er Blöcke.

Nach jeder Testsitzung wurden die Probanden zur Awareness, der Bewusstwerdung des Stimulusabfolge, mit einem Fragebogen befragt.

Sowohl Großhirn, als auch das Kleinhirn wurden MRT-volumetrisch vermessen. Erwartungsgemäß war das Kleinhirnvolumen bei den Patienten signifikant verringert.

Bei der Betrachtung des kurzen Trace-Intervalls zeigte sich eine signifikant reduzierte Anzahl an erworbenen konditionierten Antworten der Patientengruppe gegenüber der Kontrollgruppe. Im langen Trace-Intervall zeigte sich kein Unterschied zwischen den Gruppen, ebenso bei der Untersuchung des Timings der konditionierten Antworten.

Zusammenfassend legt diese Arbeit nahe, dass der cerebelläre Kortex beim Menschen eine Rolle in dieser Art der Blinkreflexkonditionierung spielt, vorausgesetzt, dass das Trace-Intervall relativ kurz gewählt wird.

Literaturverzeichnis

1. Aksenov, D., Serdyukova, N., Irwin, K., Bracha, V. (2004):
GABA neurotransmission in the cerebellar interposed nuclei: involvement in classically conditioned eyeblinks and neuronal activity.
J Neurophysiol 91, 719-727.
2. Blodel, J.R., Bracha, V. (1995):
On the cerebellum, cutaneomuscular reflexes, movement control and the elusive engrams of memory.
Behav Brain Res 68, 1-44.
3. Bracha, V., Zhao, L., Irwin, K.B., Bloedel, J.R. (2000):
The human cerebellum and associative learning: dissociation between the acquisition, retention and extinction of conditioned eyeblinks.
Brain Res 810, 87-94.
4. Christian, K.M., Thompson, R.F. (2003):
Neutral substrates of eyeblink conditioning: acquisition and retention.
Learn Mem 10, 427-455.
5. Clark, R.E., Squire, L.R. (1998):
Classical conditioning and brain systems: the role of awareness.
Science 280, 77-81
6. Dimitrova, A., Zeljko, D., Schwarze, F., Maschke, M., Gerwig, M., Frings, M., Beck, A., Aurich, V., Forsting, M., Timmann, D. (2006):
Probabilistic 3 D MRI atlas of the human cerebellar dentate/interposed nuclei.
Neuroimage 30 ,12-25.
7. Finkbinder, R.G. ,Woodruff-Pak, D.S. (1991):
Classical eyeblink conditioning in adulthood: effects of age and interstimulus interval on acquisition in the trace paradigm.

Psychol Aging 6, 109-117.

8. Fortier, C.B., Disterhoft, J.F., McGlinchey-Berroth, R. (2000):
Cerebellar cortical degeneration disrupts discrimination learning but not delay or
trace classical eyeblink conditioning.
Neuropsychology 14, 537- 550.

9. Gerwig, M., Dimitrova, A., Kolb, F.P., Maschke, M., Brol, B., Kunnel, A.,
Böring, D., Thilmann, A.F., Forsting, M., Diener, H.C., Timmann, D. (2003):
Comparison of eyeblink conditioning in patients with superior and posterior
inferior cerebellar lesions.
Brain 126, 71-94.

10. Gerwig, M., Dimitrova, A., Maschke, M., Kolb, F.P., Forsting, M.,
Timmann, D. (2004):
Amplitude changes of unconditioned eyeblink responses in patients with
cerebellar lesions.
Exp Brain Res 155, 341-351.

11. Gerwig, M., Hajjar, K., Dimitrova, A., Maschke, M., Kolb, F.P., Thilmann,
A.F., Forsting, M., Diener, H.C., Timmann, D. (2005):
Timing of conditioned eyeblink responses is impaired in cerebellar patients.
J Neurosci 25, 3919-3931.

12. Gerwig, M., Haerter, K., Hajjar, K., Dimitrova, A., Maschke, M., Kolb, F.P.,
Thilmann, A.F., Gizewski, E.R., Timmann, D. (2006a):
Trace eyeblink conditioning in human subjects with cerebellar lesions.
Exp Brain Res 170, S. 7-21.

13. Gerwig, M., Hajjar, K., Frings, M., Dimitrova, A., Thilmann, A.F., Kolb, F.P.,
Forsting, M., Timmann, D. (2006b):
Extinction of conditioned eyeblink responses in patients with cerebellar
disorders.
Neurosci Lett 406, 87-91.

14. Gerwig, M., Kolb, F.P., Timmann, D. (2007):
The involvement of the human cerebellum in eyeblink conditioning.
Cerebellum 6, 38-57.
15. Green, J.T., Woodruff-Pak, D.S. (2000)
Eyeblink classical conditioning: Hippocampal formation is for neutral stimulus
associations as cerebellum is for association-response.
Psychol Bull 126, S. 138-158.
16. Green, J.T., Arenos, J.D. (2007):
Hippocampal and cerebellar single-unit activity during delay and trace eyeblink
conditioning in the rat.
Neurobiol Learn Mem 87, 269-284.
17. Gruart, A., Guillazo-Blanch, G., Fernandez-Mas, R., Jimenez-Diaz, L.,
Delgado-Garcia, J.M. (2000):
Cerebellar posterior interpositus nucleus as an enhancer of classically
conditioned eyelid responses in alert cats.
J Neurophysiol 84, 2680- 2690.
18. James, G.O., Hardiman, M.J., Yeo, C.H. (1987):
Hippocampal lesions and trace conditioning in the rabbit.
Behav Brain Res 23, 109-116.
19. Kehoe, E.J., Macrae, M. (2002): Fundamental behavioral methods and
findings in classical conditioning.
In: J. W. Moore (Ed.): *Classical Conditioning: A Guidebook for Neuroscientists*
S.171-231
New York, Berlin, Heidelberg (usw.): Springer-Verlag
20. Kim, J.J., Clark, R.E., Thompson, R.F. (1995):
Hippocampectomy impairs the memory of recently, but not remotely, acquired
trace eyeblink conditioned responses.
Behav Neurosci 109, 195-203.

21. Kimble, G.A., Reynolds, B. (1967): Eyeblink conditioning as a function of the interval between the conditioned and unconditioned stimuli.

In: Kimble, G.A. (Ed.): Foundations of conditioning and learning.

S. 279-287.

New York: Appleton-Century-Crofts

22. Kirsch, P., Achenbach, C., Kirsch, M., Heinzmann, M., Schienle, A., Vaitl, D.(2003):

Cerebellar and hippocampal activation during eyeblink conditioning depends on the experimental paradigm: a MEG study.

Neural Plast 10, 291-301.

23. Kishimoto, Y., Kawahara, S., Suzuki, M., Mori, H., Mishina, M., Kirino, Y. (2001):

Classical eyeblink conditioning in glutamate receptor subunit delta 2 mutant mice is impaired in the delay paradigm but not in the trace paradigm.

Eur J Neurosci 13,1249-1253.

24. Koekkoek, S.K., Hulscher, H.C., Dortland, B.R., Hensbroek, R.A., Elgersma, Y., Ruigrok, T.J., De Zeeuw, C.I. (2003):

Cerebellar LTD and learning dependent timing of conditioned eyelid responses.

Science 301,1736-1739.

25. Klockgether, T., Timmann, D. (2007): Erbliche und nicht erbliche Ataxien.

In: Brandt T ; Dichigans J; Diener HC (Hrsg.): Therapie und Verlauf neurologischer Erkrankungen.

S. 1076-1088.

Stuttgart : Kohlhammer

26. Kronenbürger, M., Gerwig, M., Brol, B., Block, F., Timmann, D. (2007):

Eyeblink conditioning is impaired in subjects with essential tremor.

Brain 130, 1538-1551.

27. Lipkin, S.G., Moore, J.W. (1966):

Eyelid trace conditioning, CS intensity, CS-UCS interval, and a correction for "Spontaneous" blinking.

J Exp Psychol 72, 16-220.

28. Manns, J.R., Clark, R.E., Squire, L.R. (2000):

Awareness predicts the magnitude of single-cue trace eyeblink conditioning.

Hippocampus 10, 181-186.

29. McGlinchey-Berroth, R., Carrillo, M.C., Gabrieli, J.D., Brawn, C.M.,

Disterhoft, J.F. (1997):

Impaired trace eyeblink conditioning in bilateral, medial-temporal lobe amnesia.

Behav Neurosci 111, 873-882.

30. Medina, J.F., Repa, C., Mauk, M.D., LeDoux, J.E. (2002):

Parallels between cerebellum- and amygdala-dependent conditioning.

Nat Rev. Neurosci 3, 122-131.

31. Moyer, J.R. Jr., Deyo, R.A., Disterhoft, J.F. (1990):

Hippocampectomy disrupts trace eye-blink conditioning in rabbits.

Behav Neurosci 104, 243-252.

32. Perrett, S.P., Ruiz, B.P., Mauk, M.D. (1993):

Cerebellar cortex lesions disrupts learning-dependent timing of conditioned eyelid responses.

J Neurosci 13, 1708-1718.

33. Perrett, S.P., Mauk M.D. (1995):

Extinction of conditioned eyelid responses requires the anterior lobe of cerebellar cortex.

J Neurosci 15, 2074-2080.

34. Plakke, B., Freeman, J.H., Poremba, A. (2007):

Metabolic mapping of the rat cerebellum during delay and trace eyeblink conditioning.

Neurobiol Learn Mem 88, 11-18.

35. Port R.L., Romano, A.G., Steinmetz, J.E., Mikhail, A.A., Patterson, M.M. (1986)

Retention and acquisition of classical trace conditioned responses by rabbits with hippocampal lesions.

Behav Neurosc 100, 745-752.

36. Reynolds, B. (1945):

The acquisition of a trace conditioned response as a function of the magnitude of the stimulus trace.

J Exp Psychol 35, 15-30.

37. Richter, S., Dimitrova, A., Hein-Kropp, C., Wilhelm, H., Gizewski, E., Timmann, D. (2005):

Cerebellar agenesis II: motor and language functions.

Neurocase 11, 103-113.

38. Robleto, K., Poulos, A.M., Thompson, R.F. (2004):

Brain mechanisms of extinction of the classically conditioned eyeblink response.

Learn Mem 11, 517-524.

39. Schiebler, T.H., Arnold, G. (2003):

Anatomie. 8. Auflage

Berlin, New York, Heidelberg (usw.): Springer Verlag; S. 774-780

40. Schmitz-Hübsch, T., du Montcel, S.T., Baliko, L., Berciano, J., Boesch, S., Depondt, C., Giunti, P., Globas, C., Infante, J., Klang, J.S., Kremer, B., Mariotti, C., Melegh, B., Pandolfo, M., Rakowicz, M., Ribai, P., Rola, R., Schols, L., Szymanski, S., van de Warrenburg, B.P., Durr, A., Klockgether, T., Fancellu, R. (2006) :

Scale for the assessment and rating of ataxia: development of a new clinical scale.

Neurology 66, 1717-1720.

41. Solomon, P.R., Vander Schaaf, E.R., Thompson, R.F., Weisz, D.J. (1986):
Hippocampus and trace conditioning of the rabbit's classically conditioned
nictitating membrane response.
Behav Neurosci 100, 729-744.
42. Takehara, K., Kawahara, S., Kirino, Y. (2003):
Time-dependent reorganization of the brain components underlying memory
retention in trace eyeblink conditioning.
J Neurosci 23, 9897-9905.
43. Thompson, R.F., Bao, S., Chen, L., Cipriano, B.D., Grethe, J.S., Kim, J.J.,
Thompson, J.K., Tracy, J.A., Weninger, M.S., Krupa D.J. (1997):
Associative learning.
Int Rev Neurobiol 41, 151-189.
44. Timmann, D. (2006):
Diagnostik und Therapie der Ataxien - Schwindende Signale vom Kleinhirn.
Info Neurologie & Psychiatrie 8, 34-43.
45. Timmann, D.; Kolb, F.P.; Jüptner, M. (1998):
Zur Bedeutung des menschlichen Kleinhirns für motorische Lernvorgänge.
Akt Neurologie 25, 41-49.
46. Timmann, D., Drepper, J., Maschke, M., Kolb, F.P. (1999):
Neue Erkenntnisse über die Physiologie und Pathophysiologie des Kleinhirns.
Med Welt 50, 59-66.
47. Timmann, D.; Gerwig, M., Frings, M., Maschke, M., Kolb, F.P. (2005):
Eyeblink conditioning in patients with hereditary ataxia: a one year follow-up
study.
Exp Brain Res 162, 332-345.
48. Timmann, D., Richter, S., Schoch, B., Frings, M. (2006):

Kleinhirn und Kognition - Eine Übersicht.

Akt Neurologie 33 70-80.

49. Topka, H., Valls-Sole, J., Massaquoi, S.G., Hallett, M. (1993):

Deficit in classical conditioning in patients with cerebellar degeneration.

Brain 116, 961-969

50. Trepel, Martin (2001):

Neuroanatomie.2. Auflage

München, Jena :Urban und Fischer; S. 141-159.

51. Trouillas, P., Takayanagi, T., Hallett, M., Currier, R.D., Subramony, S.H., Wessel, K., Bryer, A., Diener, H.C., Massaquoi, S., Gomez, C.M., Coutinho, P., Ben Hamida, M., Campanella, G., Filla, A., Schut, L., Timmann, D., Honnorat, J., Nighoghossian, N.; Manyam, B. (1997):

International Cooperative Ataxia Rating Scale for pharmacological assessment of the cerebellar syndrome. The Ataxia Neuropharmacology Committee of the World Federation of Neurology.

J Neurol Sci 145, 205-211.

52. Tseng, W., Guan, R., Disterhoft, J.F., Weiss, C. (2004):

Trace eyeblink conditioning is hippocampally dependent in mice.

Hippocampus 14, 58-65.

53. Weiss, C., Bouwmeester, H., Power, J.M., Disterhoft, J.F. (1999):

Hippocampal lesions prevent trace eyeblink conditioning in the freely moving rat.

Behav Brain Res 99,123-132.

54. Winkler, G., Hahn K., Aurich, V., Martin, A., Rodenacker, K. (1999)

Noise reduction in images: some recent edge-preserving methods.

Pattern Recognit. Image Anal. 9, 749–766.

55. Woodruff-Pak, D.S., Lavond, D.G., Thompson, R.F. (1985):

Trace conditioning: abolished by cerebellar nuclear lesions but not lateral cerebellar cortex aspirations.

Brain Res 348, 249-260.

56. Woodruff-Pak, D.S., Papka, M.; Ivry, R.B. (1996):

Cerebellar involvement in eyeblink classical conditioning in humans.

Neuropsychology 10, 443-458.

57. Woodruff-Pak, D.S., Green, J.T., Levin, S.I.; Meisler, M.H. (2006)

Inactivation of sodium channel Scn8A (NA-sub(v)1.6) in Purkinje neurons impairs learning in Morris water maze and delay but not trace eyeblink classical conditioning.

Behav Neurosci 120, 229-240.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Netter, Frank H

Atlas der Anatomie des Menschen. Zweite erweiterte Ausgabe/

Frank H. Netter

Tafel 107

Novartis Pharma AG, Basel Schweiz

Stuttgart; New York: Thieme 1999

Abbildung 2: Trepel, Martin:

Neuroanatomie. S. 146 Abb.7.4a

München [u.a.]: 2., überarb. Aufl., [2. Nachdr.]. Aufl. Urban und
Fischer, 2001

Abbildung 5: Medina JF; Repa C; Mauk MD; LeDoux JE:

Parallels between cerebellum- and amygdala-dependent
conditioning.

Figure 1

In: Nature Reviews. Neuroscience 3 (2002) Nr. 2, S. 122-131

Danksagung

Ich möchte zunächst den Mitarbeitern des Motoriklabors der neurologischen Klinik danken. Insbesondere bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. D. Timmann-Braun, Herrn Priv.- Doz. Dr. M. Gerwig und Frau B. Brol, die mir während der gesamten Promotionszeit mit viel Rat und Tat zur Seite standen und so diese Dissertation erst ermöglicht haben.

Des weiteren möchte ich meiner Familie, meinem Freund Stefan und Freunden danken, die nicht nur diese Dissertation, sondern auch mein Studium mit seinen Höhen und Tiefen begleitet haben und einen entscheidenden Anteil am Gelingen beider Projekte hatten.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Anna Catharina Eßer,
geb. am 04.09.1983 in Duisburg,
ledig, keine Kinder

Staatangehörigkeit

deutsch

Schulbildung

1990–1994 Gemeinschaftsgrundschule Borth-Wallach

1994–2002 Amplonius- Gymnasium Rheinberg

Abschluss: Abitur

Hochschulstudium

2002- 2008 Studium der Humanmedizin

(Universität Duisburg-Essen)

2004 Ärztliche Vorprüfung

2007 -2008 Praktisches Jahr

Rheinische Kliniken Essen,

Kinder – und Jugendpsychiatrie

Alfried- Krupp- Krankenhaus Essen,

Innere Medizin

Gesundheitszentrum Fricktal, Spital
Rheinfelden

Chirurgische Abteilung

2008 Ärztliche Prüfung

Berufserfahrung

Seit 01/2009 Assistenzärztin Psychiatrie,
St. Josef- Hospital, Oberhausen